

⑲ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

⑪ N° de publication : **2 802 536**

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

⑳ N° d'enregistrement national : **99 14747**

⑤① Int Cl⁷ : C 07 H 3/06, G 01 N 33/543, 33/576, A 61 K 31/702,
A 61 P 31/12

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 23.11.99.

③① Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 22.06.01 Bulletin 01/25.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : CENTRE HOSPITALIER REGIONAL
ET UNIVERSITAIRE DE LILLE CHRU — FR.

⑦② Inventeur(s) : ESNAULT JACQUES, SINAY PIERRE,
CHEVALIER REYNALD, COLOMBEL JEAN
FREDERIC, MALLET JEAN MAURICE, SENDID
BOUALEM, JOUAULT THIERRY, POULAIN DANIEL et
TRINEL JEAN ANDRE.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : BREESE MAJEROWICZ SIMONNOT.

⑤④ OLIGOMANNOSIDES DE SYNTHÈSE, LEUR PRÉPARATION ET LEUR UTILISATION A LA DÉTECTION
D'ANTICORPS ET A LA PRÉVENTION D'INFECTIONS.

⑤⑦ La présente invention concerne des oligomannosides produits par synthèse chimique, homologues aux oligomannosides de la paroi d'un organisme infectieux ou pathogène, ou un dérivé de celui-ci, comme une levure, un champignon, un virus, une bactérie. L'invention concerne également la préparation desdits oligomannosides de synthèse ainsi que leur utilisation pour le diagnostic ou la prévention d'infection.

FR 2 802 536 - A1



OLIGOMANNOSIDES DE SYNTHÈSE, LEUR PRÉPARATION
ET LEUR UTILISATION A LA DÉTECTION D'ANTICORPS ET A LA
PRÉVENTION D'INFECTIONS

5 La présente invention a pour objet des
oligomannosides de synthèse, leur préparation et leur
utilisation à la détection d'anticorps et à la prévention
d'infections.

10 Chez la levure opportuniste *Candida albicans*,
comme chez tous les champignons, une partie considérable du
métabolisme est dérivée vers la synthèse des
polysaccharides pariétaux dont l'organisation module
finement l'adaptation de la cellule au milieu. De nombreux
groupes ont établi l'importance prépondérante du mannane de
15 *C. albicans* dans la physiopathologie des candidoses. Il a
ainsi été montré que les diverses interactions du mannane
avec les composants humoraux et cellulaires de l'hôte
reposent sur une spécificité dépendante des séquences
oligomannosidiques synthétisées par la levure. C'est
20 l'anométrie de liaison des résidus mannose et la longueur de
la chaîne oligomannosidique qui détermine la nature de
l'interaction qui conditionne l'issue de l'infection. Les
travaux de recherche concernant les propriétés biologiques
et la structure de ces oligomannosides, de même que bien
25 entendu la mise au point de méthode diagnostic ou de
prévention de ces infections, nécessitent de disposer de
quantités importantes d'oligomannosides. Or, la production
d'oligomannosides naturels à partir de souches de *C.*
albicans est compliquée et coûteuse. Il s'agit bien entendu
30 de disposer des souches et de les conserver, de les
cultiver en fermenteur dans des conditions très
standardisées car la nature des sucres dépend étroitement
du milieu, de la température, de l'oxygénation, du temps de
culture, etc.... La culture en fermenteur de *C. albicans*
35 nécessite une grande expertise et de nombreuses précautions

d'ordre microbiologique. Les lots de mannane doivent être ensuite récupérés de la culture et caractérisés pour leurs propriétés antigéniques mais surtout chimiquement. Celle-ci nécessite une dépolymérisation du mannane et l'analyse en RMN des sucres libérés.

Ces oligomannosides naturels sont bien entendu utilisés de la préparation de tests de diagnostic immunologique des infections par *C. albicans*. Or, la sensibilisation des plaques avec l'antigène mannane s'effectue avec des lots de production différents et selon un protocole qui ne permet aucun contrôle de la quantité déposée. Ainsi, plusieurs tests utilisent des mannanes naturels de levures pour le diagnostic des candidoses (Sendid, B. et al., 1999, J. Clin. Microbiol. 37(5):1510-7) et de la maladie de Crohn (Sendid, B. et al., 1996, Clin. Diagn. Lab. Immunol. 3(2):219:26). Ces tests détectent des anticorps contre les mélanges de séquences oligomannosidiques présentes dans les mannanes de *C. albicans* et de *S. cerevisiae*.

Afin de palier les inconvénients indiqués ci-dessus, les Inventeurs sont maintenant parvenus à produire par synthèse chimique en grande quantité et de manière reproductible des analogues des oligomannosides des enveloppes cellulaires des levures, ci-après désignés oligomannosides de synthèse, permettant de remplacer avantageusement les mannanes naturels. En effet, les travaux de recherche réalisés avec ces oligomannosides de synthèse ont montré qu'ils miment les propriétés biologiques des sucres naturels de *C. albicans* notamment en ce qui concerne l'adhérence aux cellules de mammifère. Ainsi, les Inventeurs ont mis en évidence que des oligomannosides de synthèse pouvaient être utilisés avec succès pour la sensibilisation de plaques de microtitration par couplage covalent en vue de la détection d'anticorps

spécifiques de chaque structure dont la signification diagnostique et pronostique est différente (Jouault, T., 1997, Clin. Diagn. Lab. Immunol. 4(3):328-33).

5 En outre, les inventeurs ont mis en évidence que ces oligomannosides de synthèse présentaient des propriétés remarquables d'inhibition de la colonisation par *C. albicans* permettant de les utiliser pour la prévention et le traitement des candidoses.

10 La présente invention a donc pour objet un oligomannoside produit par synthèse chimique homologue à un oligomannoside de la paroi d'un organisme infectieux ou pathogène. Plus particulièrement ledit organisme est une levure, un champignon, un virus, une bactérie dont
15 l'enveloppe cellulaire contient des oligomannosides. Par enveloppe cellulaire, on entend aussi bien la membrane, la paroi, la capsule cellulaire. L'invention concerne tout particulièrement les levures, et spécifiquement de *Candida albicans* ou *Saccharomyces cerevisiae*.

20 On entend par homologue, le fait que les oligomannosides de synthèse de l'invention présentent les mêmes motifs de mannose selon le même enchaînement de liaisons α ou β , (1-2), (1-3), (1-6), que les oligomannosides naturels des levures, notamment de *Candida albicans* ou de *Saccharomyces cerevisiae*, mais sont
25 dépourvus des autres composants cellulaires, notamment les protéines, les sucres, les lipides, qui sont inévitablement associés aux oligomannosides naturels décrits dans l'art antérieur.

30 On entend par dérivé d'un oligomannoside de synthèse de l'invention, un oligomannoside dans lequel un ou plusieurs des groupements fonctionnels sont substitués, par exemple par un groupe protecteur, ou encore des oligomannosides de synthèse conjugués à un groupement de

liaison, aussi désigné connecteur, pour le greffage sur un support comme une plaque de microtitration.

L'invention se rapporte plus particulièrement à des oligomannosides de synthèse répondant à la formule générale suivante :



dans laquelle :

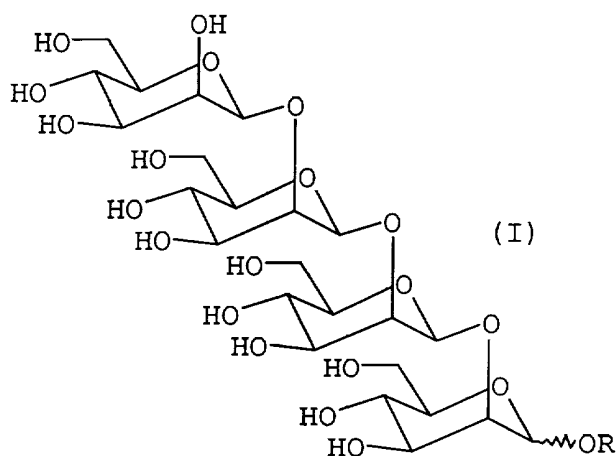
- R représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁ à C₂₀, et de préférence en C₁₅ à C₂₀, un groupe connecteur, éventuellement marqué par exemple par un groupe chromophore ou fluorescent, ou encore, comme il sera décrit plus loin une substance capable de rendre l'oligomannoside de synthèse immunogène,

- p, q, et r sont des nombres entiers entre 0 et 19 et de préférence entre 0 et 11 et la somme de p+q+r est comprise entre 1 et 19 et de préférence entre 1 et 11,

- les trois parties du polymère $[\text{Man}\alpha(1-3)]_p[\text{Man}\alpha(1-2)]_q[\text{Man}\beta(1-2)]_r$ peuvent être inversées ou répétées.

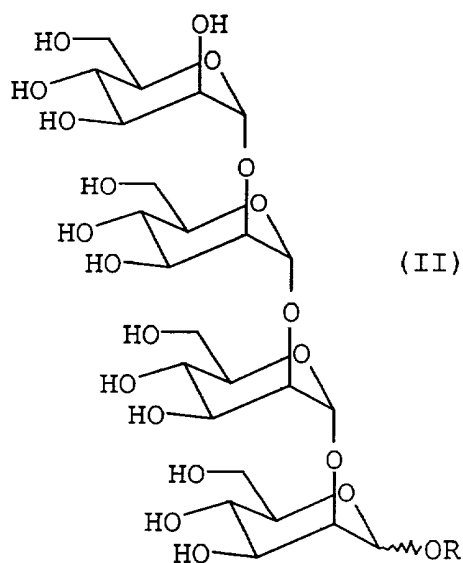
Parmi les oligomannosides de synthèse ci-dessus, l'invention se rapporte plus particulièrement aux tétramannosides, et de manière toute spécifique aux tétramannosides de synthèse suivants :

• D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man, de *C. albicans*, également désigné ci-après M β -1-2-tétramannosides, répondant à la formule (I) suivante :



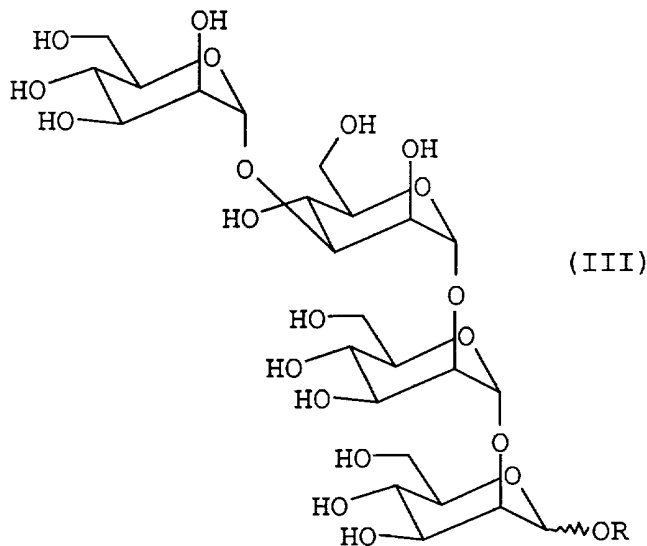
dans laquelle R représente un atome d'hydrogène, un alkyle en C₁ à C₂₀, et de préférence en C₁₅ à C₂₀, ou un groupe connecteur, éventuellement marqué, ou encore une substance capable de rendre l'oligomannoside immunogène, ou un dérivé de celui-ci dont un ou plusieurs des groupes hydroxyles sont substitués.

• D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man, de *C. albicans*, également désigné ci-après M α -1-2-tétramannosides, répondant à la formule (II) suivante :



dans laquelle R à la même signification que dans la formule (I).

• D-Man $\alpha(1-3)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ de *S. cerevisiae*, répondant à la formule (III) suivante :



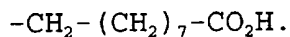
5 dans laquelle R à la même signification que dans la formule (I).

10 La présence d'un groupe R représentant un connecteur est utile pour la préparation de tests de détection de la présence chez un sujet d'anticorps spécifiques de certains oligomannosides pour le diagnostic d'une infection par *C. albicans* ou de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et notamment de la maladie de Crohn comme il sera décrit plus loin.

15 Le connecteur peut être tout groupe chimique permettant de coupler, de préférence par covalence mais aussi par d'autres liaisons par exemple de type hydrophobe, les oligomannosides de synthèse sur un support comme une plaque de microtitration. Le couplage covalent offre
20 l'avantage d'utiliser une surface robuste et adaptée au test d'immunoanalyse, il permet une meilleure orientation des oligomannosides de synthèse et aussi de disposer d'une densité plus élevée d'épitopes et évite les problèmes de

reconnaissance de l'anticorps car les sites antigéniques sont bien accessibles.

On préfère des connecteurs comportant une fonction acide carboxylique qui pourra être activée pour le couplage sur une surface elle-même activée pour réagir avec les oligomannosides de synthèse. A titre d'exemple de connecteur, on peut citer le connecteur de R. U. Lemieux (Lemieux, R. U. et al., 1975, J. Am. Chem. Soc. 97, 4076-4083), où R représente un groupe de formule :



Les connecteurs portant un groupe acide carboxylique, comme le connecteur de R. U. Lemieux peuvent être activés par un carbodiimide afin d'obtenir un ester activé qui permet la formation de liaisons amides avec des groupes amines primaires à la surface du support. La carbodiimide hydro-soluble (EDC : 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) est utilisée pour activer les groupements $-\text{COOH}$ de l'oligomannoside de synthèse en présence de sulfo-N-hydroxy succinimide (sulfo-NHS : N-hydroxysuccinimidine). Le sulfo-NHS supprime de manière efficace l'hydrolyse du produit activé et permet la fixation de l'oligomannoside de synthèse à la surface de la plaque déjà sensibilisée par le groupement $-\text{NH}_2$.

Les oligomannosides de synthèse de l'invention peuvent être préparés par condensation de monosaccharides ou disaccharides protégés, de préférence, par condensation de dimannosides protégés selon une stratégie par dibloc.

Une forme de mise en œuvre préférée d'une stratégie dibloc pour la préparation d'oligomannosides selon l'invention consiste à :

a) préparer des diblocs dont :

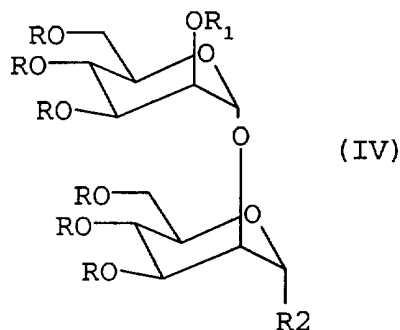
- l'un au moins des deux blocs est le bloc intermédiaire, où les fonctions hydroxyles libres de chaque monosaccharide sont substituées par un ou plusieurs groupes

protecteurs identiques ou différents, sauf celle nécessaire à la condensation avec un autre dibloc qui est activée par un groupe partant,

5 - l'un des deux blocs est le bloc terminal, où les fonctions hydroxyles libres de chaque monosaccharide sont substituées par un ou plusieurs groupes protecteurs identiques ou différents, sauf celle nécessaire à la condensation avec un autre dibloc, et éventuellement celle substituée par un groupe de liaison pour la fixation de
10 l'oligomannoside sur un support,

b) à condenser lesdits diblocs, puis à déprotéger l'oligomannoside ainsi préparé.

15 Un exemple de dimannosides $\text{Man}\alpha(1-2)\text{Man}$ pour la mise en œuvre du procédé ci-dessus répond à la formule (IV) suivante :



dans laquelle :

20 - R est un groupe protecteur permanent. On entend par groupe protecteur permanent, un groupe protecteur qui est introduit en début de synthèse et retiré à la fin de la synthèse de l'oligomannoside. A titre d'exemple d'un tel groupe protecteur permanent, on peut citer un groupe benzyle.

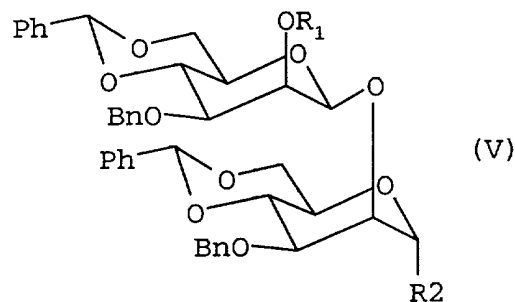
25 - R1 est un groupe protecteur temporaire. On entend par groupe protecteur temporaire, un groupe protecteur qui est enlevé pour permettre la condensation. A titre d'exemple d'un tel groupe protecteur temporaire, on peut citer le groupe acétate.

- R2 est :

. dans le cas d'un bloc intermédiaire, un groupe partant et dans ce cas le bloc peut être associé au reste du polymère en α ou β ; à titre d'exemple d'un tel groupe partant, on peut citer $-O-C(NH)-CCl_3$ ou PhS,

. dans le cas d'un bloc terminal, un groupe choisi parmi un groupe alkyle, benzyle, ou encore un connecteur, en α ou β .

Un exemple de dimannosides $Man\beta(1-2)Man$ pour la mise en œuvre du procédé ci-dessus répond à la formule (V) suivante :



dans laquelle :

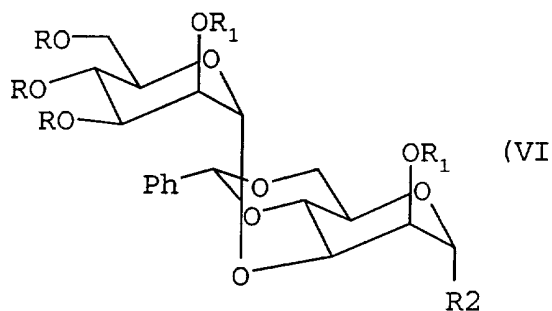
- R1 est un groupe protecteur temporaire; à titre d'exemple d'un tel groupe protecteur temporaire, on peut citer un groupe *tert*butyl diméthyl silyl

- R2 est :

. dans le cas d'un bloc intermédiaire, un groupe partant et dans ce cas le bloc peut être associé au reste du polymère en α ou β ; à titre d'exemple d'un tel groupe partant, on peut citer SPh ou SPh;

. dans le cas d'un bloc terminal, un groupe choisi parmi un groupe alkyle, benzyle, ou encore un connecteur, en α ou β .

Un exemple de dimannosides $Man\alpha(1-3)Man$ pour la mise en œuvre du procédé ci-dessus répond à la formule (VI) suivante :



dans laquelle :

- R est un groupe protecteur permanent ; à titre d'exemple d'un tel groupe protecteur permanent, on peut citer le groupe benzyle,

- R1 est un groupe protecteur temporaire ; à titre d'exemple d'un tel groupe protecteur, on peut citer le groupe acétate,

- R2 est :

. dans le cas d'un bloc intermédiaire, un groupe partant et dans ce cas le bloc peut être associé au reste du polymère en α ; à titre d'exemple d'un tel groupe partant, on peut citer un groupe thiophényle (SPh),

. dans le cas d'un bloc terminal, un groupe choisi parmi un groupe alkyle, benzyle, ou encore un connecteur, en α ou β .

Les dimannosides ci-dessus peuvent être utilisés pour la préparation de tetramannosides de l'invention.

Le tétramannoside D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man de formule (I), peut être préparé à partir de deux blocs Man β (1-2) de formule (V), dont l'un est un dibloc intermédiaire dans lequel R2 est un groupe partant, par exemple R2 = -SOPh, formant une liaison β , et l'autre un dibloc terminal dans lequel R2 par exemple un SPh.

Le tétramannoside D-Man α (1-2)D-Man α (1-2)D-Man α (1-2)D-Man, de formule (II) peut être préparé à partir de blocs Man α (1-2)Man de formule (IV), dont l'un est un

dibloc intermédiaire dans lequel R2 est un groupe partant, par exemple R2 représente un groupe $-C(NH)-CCl_3$, et l'autre un dibloc terminal dans lequel R2 est $-SPh$.

5 Le tétramannoside $D-Man\alpha(1-3) D-Man\alpha(1-2) D-Man\alpha(1-2) D-Man\alpha(1-2)$, de formule (III) peut être préparé à partir d'un dibloc $Man\alpha(1-3)Man$ de formule (VI) et d'un dibloc $Man\alpha(1-2)Man$ de formule (IV), le dibloc intermédiaire est $Man\alpha(1-3)Man$ de formule (VI) dans lequel R2 est un groupe partant, par exemple R2 est $-SPh$, et le
10 dibloc terminal est $Man\alpha(1-2)Man$ dans lequel R2 représente le groupe R défini dans la formule (III).

Comme indiqué précédemment, les oligomannosides de synthèse de l'invention sont utiles pour la détection *in vitro* sur un échantillon d'un patient de la présence d'une
15 infection par un organisme infectieux ou pathogène, notamment une levure, un champignon, un virus, une bactérie dont l'enveloppe cellulaire contient des oligomannosides. Un tel procédé consiste à mettre en contact au moins un
20 oligomannoside de synthèse défini précédemment avantageusement préalablement fixé sur un support solide avec un échantillon biologique susceptible de contenir des anticorps dirigés contre l'organisme infectieux ou pathogène, puis la détection par tout moyen approprié d'un
25 complexe antigène-anticorps. L'invention concerne plus particulièrement le diagnostic d'une infection par de *C. albicans* et de *S. cerevisiae*.

Ainsi, les inventeurs ont mis en évidence que les tetramannosides $D-Man\beta(1-2)D-Man\beta(1-2)D-Man\beta(1-2)D-Man$ de formule (I) et $D-Man\alpha(1-2)D-Man\alpha(1-2)D-Man\alpha(1-2)D-Man$,
30 de formule (II) permettent une détection spécifique d'une infection par *C. albicans*, donc le diagnostic des candidoses.

De même, les inventeurs ont mis en évidence que
35 le tetramannoside $D-Man\alpha(1-3) D-Man\alpha(1-2) D-Man\alpha(1-2)$

D-Man α (1-2) de formule (III) permet une détection spécifique d'une infection par *S. cerevisiae* et peut avantageusement mis en œuvre dans des tests ASCA pour le diagnostic de la maladie de Crohn.

5 Les inventeurs ont encore montré que de façon surprenante le tetramannoside D-Man α (1-3) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) de formule (III) pouvait être utilisé dans le cadre des tests ASCA pour le diagnostic des hépatites virales ou autoimmunes.

10 L'invention concerne donc encore un kit pour le diagnostic sur un échantillon biologique d'un patient d'une infection par un organisme infectieux ou pathogène, notamment une levure, un champignon, un virus, une bactérie dont l'enveloppe cellulaire contient des oligomannosides.
15 Un tel kit comprend au moins un oligomannoside de synthèse défini précédemment, avantageusement fixé sur un support solide, comme une plaque ELISA, des moyens pour détecter la formation de complexes antigène-anticorps, et éventuellement des réactif témoins.

20 Les travaux de recherche réalisés dans le cadre de l'invention ont permis de découvrir que les oligomannosides de synthèse définis précédemment peuvent être utilisés pour inhiber la colonisation par les agents infectieux ou pathogènes dont les membranes contiennent des
25 oligomannosides. En effet, les levures du genre *Candida* utilisent des sucres de surface de leur paroi pour s'attacher aux cellules de leur hôte, cellules du vagin ou du tube digestif. Ainsi, les inventeurs sont parvenus à
30 mettre en évidence que les anticorps contre des sucres notamment de levures protègent des infections notamment celles déterminées par *C. albicans*, voire d'autres microbes exprimant les mêmes sucres par exemple LPS des *Salmonella*, *E. Coli*)

Plus particulièrement, les inventeurs ont montré, dans un modèle de candidose vaginale que le tetramannoside D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man de formule (I) réduisait la colonisation par *C. albicans* de manière très significative. De même le tetramannoside D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man de formule (I) s'est avéré très protecteur dans des modèles expérimentaux de candidose disséminés.

En conséquence, l'invention concerne des conjugués formés d'un oligomannoside de synthèse couplé à une substance capable de rendre les sucres immunogènes, comme par exemple l'anatoxine tétanique, ainsi que les anticorps monoclonaux ou polyclonaux dirigés spécifiquement contre lesdits conjugués. Ces anticorps sont utiles comme outils de recherche mais aussi pour la mise au point d'outil de diagnostic. L'invention concerne aussi les compositions pharmaceutique comprenant à titre d'agent actif au moins un de ces conjugués avantageusement associé dans la composition à un véhicule pharmaceutiquement acceptable. Ces compositions pharmaceutiques peuvent être appliquées localement ou généralement de façon à induire une inhibition de la colonisation ou une protection par immunisation locale ou générale selon le type d'infection observée.

L'invention envisage plus spécifiquement les conjugués formés à partir de D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man.

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront dans les exemples qui suivent concernant la préparation d'oligomannosides de l'invention et leur utilisation pour le diagnostic, la prévention et le traitement d'infections, et où il sera fait référence aux dessins en annexe dans lesquels :

La figure 1 représente le schéma réactionnel de la préparation de D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man de formule (I).

5 La figure 2 représente le schéma réactionnel de la préparation de la préparation de D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man de formule (II).

La figure 3 représente le schéma réactionnel de la préparation de D-Man $\alpha(1-3)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ de formule (III).

10 La figure 4 représente le schéma réactionnel de la préparation de dimannosides Man $\beta(1-2)$ Man.

Les figures 5 et 6 rapportent les tests effectués respectivement avec le D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ et le D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man sur le facteur 5 spécifique des β -1,2 oligomannosides et le facteur 1 réagissant avec les α -1,2 oligomannosides vis à vis des mannotétraoses de synthèse d'anomérisation α et β -1,2.

20 La figure 7 représente la réactivité du D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man avec plusieurs anticorps monoclonaux.

25 La figure 8 représente la réactivité antigénique du mannotetraose de synthèse D-Man $\alpha(1-3)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man vis-à-vis du facteur antigénique 34.

La figure 9 représente la réactivité sérologique d'un pool de sérums de patients atteints de la maladie de Crohn vis-à-vis du mannotetraose de synthèse.

30 La figure 10 rapporte l'inhibition de la colonisation dans un modèle de candidose vaginale expérimentale de la rate par les tétramannosides de l'invention.

Exemple 1 : Préparation de D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man de formule (I).

I - Schéma réactionnel.

5

La figure 1 en annexe représente le schéma réactionnel de la préparation de D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man de formule (I).

10 - le composé de formule 1 (Stutz, A. et al., 1985, Carbohydr.Res. 137, 282-290) est préparé par réaction de PhCH(OMe)₂ sur le phényl 1-thio- α -D-mannopyranoside (Maity, S. K. et al., 1994, Tetrahedron, 50, 6965-6974) dans le DMF en présence de HBF₄ Et₂O. Une benzylation sélective donne le composé 2. Ce dernier est silylé et
15 oxydé pour donner le composé 4.

La réaction (a) est réalisée dans les conditions suivantes : BnBr, Bu₂SnO, NBu₄Br, toluène, 110°C.

20 La réaction (b) est réalisée dans les conditions suivantes : TBDMSOTf, Et₃N, CH₂Cl₂.

La réaction (c) est réalisée dans les conditions suivantes : MCPBA, CH₂Cl₂, -40°C.

25 Les disaccharides et tétrasaccharides portant un thiophényl sont préparés tout d'abord en condensant les composés 2 et 4. La condensation entre 2 et 4 donne le disaccharide 5, celui ci peut être activé en sulfoxyde pour donner le composé 7 ou déprotéger en position 2' pour donner l'accepteur 6. La condensation des composés 6 et 7 donne le tétrasaccharide clé 8.

30 La réaction (d) est réalisée dans les conditions suivantes : Tf₂O, 2,6-diterbutyl-pyridine ou 2,6-diterbutyl-4-methyl pyridine (DBMP), CH₂Cl₂, -78°C.

La réaction (e) est réalisée dans les conditions suivantes : b) $\text{NBu}_4\text{F} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, THF.

La réaction (f) est réalisée dans les conditions suivantes : MCPBA, -40°C , CH_2Cl_2 .

5 La réaction (g) est réalisée dans les conditions suivantes : Tf_2O , DBMP, CH_2Cl_2 , -0°C .

Le 8-méthoxycarboxyloctanol a été choisi comme connecteur. Ce dernier peut être préparé selon Lemieux (Lemieux, R. U. et al. 1975, J. Am. Chem. Soc., 97, 4076-10 4083) à partir de l'acide azélaïque ou mieux par ozonolyse de l'oléate de méthyle et réduction *in situ* de l'aldéhyde formé par NaBH_4 (Gerlach, H. et al. 1978, Helv. Chim. Acta, 61, 1226-1231)

Ce composé 8 est ensuite transformé en 9 par 15 élimination du silyle par NBu_4NF , réaction avec l'eau en présence de NBS, puis en le tétramannoside de formule (I) dans laquelle R est H par déprotection des benzyles et benzyldènes.

La glycosylation du composé 8 avec le 8-20 méthoxycarboxyloctanol donne le composé 10 qui donne après déprotection le tétramannoside de formule (I) dans laquelle R est $-(\text{CH}_2)_8-\text{CO}_2\text{Me}$.

La réaction (h) est réalisée dans les conditions suivantes : $\text{NBu}_4\text{F} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, THF; puis NBS, H_2O , 25 acétone.

La réaction (i) est réalisée dans les conditions suivantes : NBS, TfOH, 8-méthoxycarboxyloctanol, tamis moléculaire 4 Angstrom, CH_2Cl_2 .

La réaction (j) est réalisée dans les conditions suivantes : H_2 , Pd/C, MeOH, AcOEt. 30

La réaction (k) est réalisée dans les conditions suivantes : 1- $\text{NBu}_4\text{NF} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, THF; 2- H_2 , Pd/C, MeOH, AcOEt, 3-NaOH, THF, H_2O .

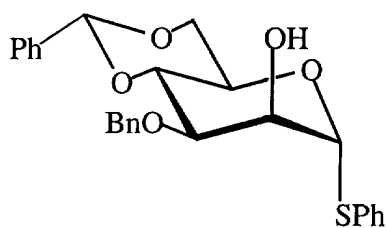
II - Protocole expérimental.1) Généralités.

5 Les points de fusion ont été mesurés sur un
appareil capillaire Buchi 510 et n'ont pas été corrigés.
Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés à température
ambiante à l'aide d'un polarimètre Perkin-Elmer 241. Les
spectres de masse en mode d'ionisation chimique (ammoniac)
ont été obtenus avec un spectromètre Nermag R10-10. Les
10 analyses élémentaires ont été effectuées par le Service de
Micro Analyse de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris
VI). Les spectres RMN du proton ont été enregistrés sur des
appareil Bruker à 250 ou 400 MHz en solution dans le
chloroforme deutérié. Les déplacements chimiques sont
15 donnés en ppm par rapport au TMS et les abréviations
utilisées sont les suivantes: s (singulet); se (singulet
élargi); d (doublet); de (doublet élargi); t (triplet); q
(quadruplet) et m (multiplet); by (benzylidène). Les
chromatographies sur couches minces ont été réalisées sur
20 plaques de silice Merck 60 F₂₅₄ et révélées par
vaporisation d'une solution alcoolique d'acide sulfurique
concentré (20% v/v) et chauffage. Les chromatographies sur
colonne (flash) ont été faites sur gel de silice 60 (230-
400 mesh, Merck).

25

1) Phényl 3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-1-thio-
α-D-mannopyranoside (2).

Ce composé est décrit dans la littérature: Z
Szurmai, L Balatoni, A.Liptak, *Carbohydr. Res.* 254 (1994)
30 301-309 et T Oshitari, S Kobayashi, *Tetrahedron Lett* (1995)
1089-92. La description ci-après rapporte une synthèse
utilisable sur de grandes quantités (avec deux variantes
correspondant à deux solvants différents).



- Méthode 1 (le solvant est le toluène):

A une solution de 1 (composé connu : H Franzyk, M Medal, H Paulsen, K Bock *J. Chem Soc. Perkin Trans I*, (1995) 2883-98 avantageusement préparé selon R. Albert, K Dax, R. Pleschko, A Stütz, *Carbohydr. Res.* 137 (1985) 282-290) (10g, 28 mmol) dans 295 mL de toluène anhydre, on ajoute 7.59g d'oxyde de dibutylétain. Le mélange est porté à reflux du toluène avec un appareil de Dean Stark pendant une nuit. De l'iodure de tétrabutylammonium (6.59g), puis du bromure de benzyle (4.3mL) sont ajoutés. L'agitation est maintenue 3h sous reflux, puis on ramène à température ambiante (contrôle cyclohexane/acétate d'éthyle=3/1) et concentre sous vide le mélange. On obtient un résidu, qui est purifié par chromatographie sur colonne (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=4/1) pour donner le produit 2 (11g, 89%).

- Méthode 2 (le solvant est l'acétonitrile):

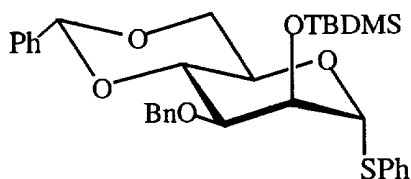
On introduit dans un ballon, le composé 1 (9.05 g, 25.11 mmol) et 450 mL d'acétonitrile anhydre. On chauffe au reflux du CH₃CN sous argon (le composé 1 se dissout dans l'acétonitrile à chaud). Quand la solution est limpide, on ajoute 23.53 g de tamis 4 Å en poudre, 7.51 g de Bu₂SnO. On laisse au reflux pendant 6 heures. On laisse revenir à température ambiante. On ajoute 8.10 g de nBu₄N⁺Br⁻ (1 éq), 6.3 mL de bromure de benzyle (2.3 éq) et agite pendant la nuit à 45°C. On filtre à travers un entonnoir fritté recouvert de célite, on rince les solides avec du dichlorométhane et concentre sous vide. On obtient un résidu, qui est purifié par chromatographie sur colonne

(élution:cyclohexane/acétate d'éthyle= 3/1) pour donner le produit 2 (10.2 g, 90%)

$^1\text{H-RMN}$: (250 MHz, CDCl_3): δ : 5.55 (s, 1H, By); 5.52 (s, 1H, H-1); 4.82 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.79$ Hz, CHPh); 4.67 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.75$ Hz, CHPh); 4.27 (ddd, 1H, H-5); 4.21 (d, 1H, $J_{2-3}=3.54$ Hz, H-2); 4.14 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=9.73$ Hz et $J_{6a-5}=4.80$ Hz, H-6a); 4.11 (t, 1H, H-4); 3.89 (dd, 1H, $J_{3-4}=9.50$ Hz et $J_{3-2}=3.37$ Hz, H-3); 3.78 (t, 1H, $J_{6b-5}=10.18$ Hz et $J_{6b-6a}=10.18$ Hz, H-6b); 2.79 (s, 1H, O-H).

10

2) Phenyl 2-O-tertbutyldimethylsilyl-3-O-benzyl-4,6-benzylidene-1-thio- α -D-mannopyranoside (3).



15

On introduit dans un ballon, sous atmosphère d'argon, le composé 2 (5.51 g, 12.23 mmol) et 55 mL de dichlorométhane anhydre. On ajoute sous agitation: 5.3 mL de triéthylamine (3.1 éq), 4.65 mL de triflate de tertbutyldiméthylsilyle (1.65 éq). On agite pendant une nuit à température ambiante. On contrôle l'état d'avancement de la réaction par CCM (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=3/1). On neutralise avec une solution aqueuse de NaHCO_3 . La phase organique est concentrée sous vide pour donner un résidu, qui est purifié par chromatographie sur colonne (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=96/4), pour donner le produit 3 (6.2 g, 90%). Rf:(cyclohexane/AcOEt=96/4): 0.43. $[\alpha]_D = +122$ (c 1,2; CHCl_3)

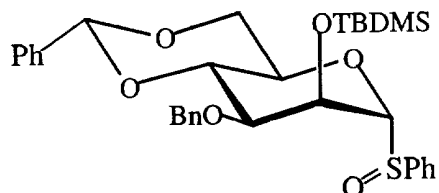
25

30

$^1\text{H-RMN}$ (250 MHz, CDCl_3) : δ : 5.55 (s, 1H, By); 5.24 (d, 1H, $J_{1-2}=1.4$ Hz, H-1); 4.69 (dd, 2H, CHPh); 4.26-4.08 (massif, 4H); 3.83-3.65 (massif, 2H); 0.81 (s, 9H, Si-tBu); 0.00 (s, 3H, Si-Me); -0.4 (s, 3H, Si-Me).

Analyse pour $C_{32}H_{40}O_5SSi$ (564.821) : calculée
C:68.04 H:7.14 trouvée C:68.15 H:7.27

3) Phenyl (2-O-tertbutyldimethylsilyl- 3-O-
5 benzyl- 4,6-O-benzylidene- α -D-mannopyranosyl) sulfoxide
(4).



On introduit dans un ballon, sous atmosphère
d'argon, le composé 3 (6.2 g, 10.97 mmol) et 125 mL de
10 dichlorométhane anhydre. Dans le ballon refroidi à -78°C ,
on ajoute de l'acide 3-chloro perbenzoïque (12.06 mmol) en
solution dans 26 mL de dichlorométhane. On maintient la
température à -78°C pendant 15 minutes puis laisse revenir
15 doucement à -30°C . On ajoute $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ pour éliminer l'excès
de peracide. On neutralise avec une solution saturée de
 NaHCO_3 , lave avec une solution saturée de NaCl , extrait les
phases aqueuses avec du dichlorométhane. La phase organique
est séchée (MgSO_4), filtrée puis concentrée. On obtient un
résidu, qui est purifié par chromatographie sur colonne
20 (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=5/1), pour donner 4
(5.04g, 79% en diastéréoisomère majoritaire). Lors de la
chromatographie on récupère l'autre diastéréoisomère en
proportion très minoritaire (<5%).

Caractéristiques de l'isomère majoritaire :
25 $[\alpha]_D = -67$ (c 1,0; CHCl_3)

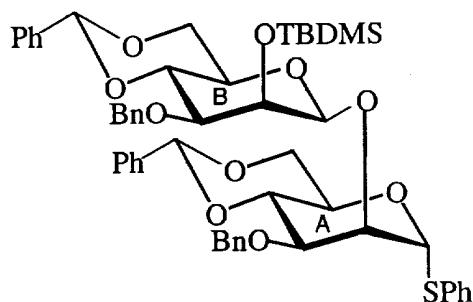
$^1\text{H-RMN}$: (400 MHz, CDCl_3) : δ 7,70-7,20 (m, 15 H,
arom); 5.69 (s, 1H, By); 4.93 et 4.82 (2d, 2H, CHPh);
4.73 (dd, 1H, $J_{1,2}=1,2$, $J_{2,3} 2.3\text{Hz}$, H-2); 4.39 (d, 1H, H-1);
4.30 (dd, 1H, $J_{3,4}=9,9$; $J_{4,5} 9,9\text{Hz}$; H-4); 4.28 (dd, 1H, H-
3); 4.26 (dd, 1H, $J_{6a,6b} 10.3$; $J_{6b,5}=5,8\text{Hz}$, H-6b); 4.14 (

ddd, 1H, $J_{5,6a}=120,1\text{Hz}$, H-5); 3.79(dd, 1H, H-6a); 0.88 (s, 9H, tBu); 0.072 et -0.046 (2s, 6H, MeSi);

Spectre de masse : m/z 598 ($M+\text{NH}_4$)⁺.

Analyse pour $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{SSi}$ (564.821) : calculée C: 66.17 H:6.94 trouvée C:66.30 H:7.06

4) Phényl 2-O-(3-O-benzyl- 4,6-O-benzylidène-2-O-tertbutyldiméthylsilyl- β -D-mannopyranosyl)- 3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-1-thio- α -D-mannopyranoside (5).



10

7.1 g (12.22 mmol, 1 éq) de 4 et 9.06 mL (40.3 mmol, 3.3 éq) de 2,6-ditertbutylpyridine sont dissous dans 200 mL de dichlorométhane anhydre et sont placés sous atmosphère d'argon. Après avoir refroidi la solution à -78°C, 2.27 mL (13.44 mmol, 1.1 éq) d'anhydride de l'acide trifluorométhanesulfonique sont ajoutés. Après 5 mn d'agitation à -78°C, 11 g (24.4 mmol, 2 éq) de 2 préalablement dilués dans 100mL de dichlorométhane anhydre sont additionnés goutte à goutte. La température est maintenue 1 heure à -78°C et laissée lentement remonter à 0°C. Le milieu réactionnel est alors neutralisé par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium. La phase organique est ensuite lavée par une solution aqueuse de NaCl, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous vide. Une chromatographie sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=96/4) du brut permet d'obtenir 5 (7.97 g, 72%) sous la forme d'une mousse blanche. p_f : 81-83°C(hexane); $[\alpha]_D$ +12.5 (c 1.02, chloroforme)

15

20

25

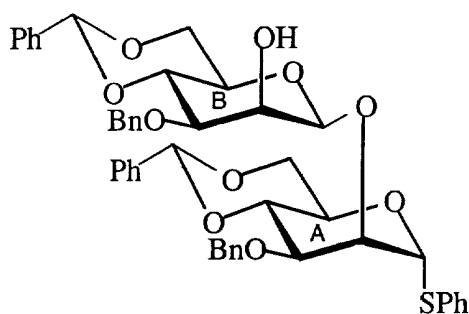
^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) : δ 7.58-7.34 m(25H, arom.), 5.66 et 5.65 (2s, 2H, by), 5.56 (d, 1H, $J_{1-2}=1\text{Hz}$, H-1A), 4.85 (2d, 2H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.8 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.75 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.53 (dd, 1H, $J_{2-1}=1\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2A), 4.52 (se, 1H, H-1B), 4.45-4.4 (m, 1H, H-5A), 4.37 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.5\text{Hz}$, H-4A), 4.31 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.3\text{Hz}$, H-6Ab), 4.26 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.3\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.8\text{Hz}$, H-6Bb), 4.21 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.5\text{Hz}$, H-4B), 4.19 (de, 1H, $J_{2-3}=2.7\text{Hz}$, H-2B), 4 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.7\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.5\text{Hz}$, H-3A), 3.91 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10\text{Hz}$, H-6Aa), 3.84 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.2\text{Hz}$, H-6Ba), 3.59 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.7\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.5\text{Hz}$, H-3B), 3.35 (dt, 1H, $J_{5-4}=J_{5-6a}=10.2\text{Hz}$ et $J_{5-6}=4.8\text{Hz}$, H-5B), 1.0 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,30 et 0,23 (2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 138.55, 138.3, 137.5, 137.4, 133.6 (5 C arom.), 131.8-126.06 (25 CH arom), 101.6 (CH by), 101.4 (CH by), 99.8 ($^1J_{\text{CH}}=157\text{Hz}$, C-1B), 86.7 ($^1J_{\text{CH}}=166\text{Hz}$, C-1A), 78.7 (C-4B), 78.2 (C-4A), 77.5 (C-3B), 76.4 (C-2A), 74 (C-3A), 72.2 (CH_2Ph), 71.7 (C-2B), 70.7 (CH_2Ph), 68.5 (C-6B), 68.47 (C-6A), 67.7 (C-5B), 65.2 (C-5A), 26 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 18.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -4 (SiCH_3), -4.5 (SiCH_3).

Spectre de masse : m/z 922 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺.

Analyse pour $\text{C}_{52}\text{H}_{60}\text{O}_{10}\text{SSi}$ (905.199) : calculée
C:68.99 H:6.68 trouvée C:68.82 H:6.69

5) Phényl 2-O-(3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène- β -D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-1-thio- α -D-mannopyranoside (6).



3.8 g (4.2 mmol, 1 éq) du produit 5 et 6.6 g (21 mmol, 5 éq) de fluorure de tetrabutylammonium trihydrate sont dissous dans 60 mL de tetrahydrofurane. Après 1 heure à température ambiante, le milieu est dilué par du dichlorométhane et la phase organique est lavé par de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=3/1) fournit 6 (3.0 g, 90%) sous forme d'une poudre blanche. pf : 79-81°C(hexane); $[\alpha]_D^{25} +30$ (c 0.33, chloroforme)

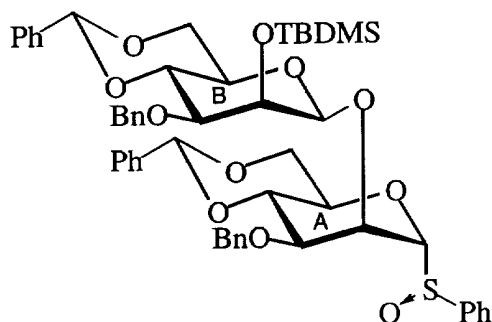
$^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 7.54-7.30m(25H, arom.), 5.59 et 5.51 (2s, 2H, by), 5.54 (d, 1H, $J_{1-2}=1\text{Hz}$, H-1A), 4.89 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.86 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.82 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.8 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.77 (d, 1H, $J_{1-2}=0.8\text{Hz}$, H-1B), 4.66 (dd, 1H, $J_{2-1}=1\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2A), 4.33 (dt, 1H, $J_{5-4}=9.7\text{Hz}$ et $J_{5-6a}=J_{5-6b}=4.9\text{Hz}$, H-5A), 4.32 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.3\text{Hz}$, H-4B), 4.26 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.5\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.9\text{Hz}$, H-6Bb), 4.3 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=5\text{Hz}$, H-6Ab), 4.24 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.7\text{Hz}$, H-4A), 4.19 (de, 1H, $J_{2-3}=3.9\text{Hz}$, H-2B), 4.04 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.3\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.7\text{Hz}$, H-3A), 3.8 (m, 2H, H-6Aa et H-6Ba), 3.72 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.9\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.2\text{Hz}$, H-3B), 3.43 (dt, 1H, $J_{5-4}=J_{5-6a}=9.5\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=4.9\text{Hz}$, H-5B), 3.2 (br, 1H, OH).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 138, 137.8, 137.3, 137.29, 131.7 (5 C arom.), 129.2-127.7 (25 CH arom), 101.4 (CH by), 101.2 (CH by), 97.4 ($^1J_{\text{CH}}=163\text{Hz}$, C-1B), 86.4 ($^1J_{\text{CH}}=167\text{Hz}$, C-1A), 78.5 (C-4A), 78.4 (C-4B), 76.1 (C-3B), 74.4 (C-3A), 74.35 (C-2A), 72.4 (CH₂Ph), 72.3 (CH₂Ph), 69.4 (C-2B), 68.5 (C-6B), 68.25 (C-6A), 66.8 (C-5B), 65.2 (C-5A).

Spectre de masse : m/z 808 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₄₆H₄₆O₁₀S (790.93) : calculée
 10 C:69.85 H:5.86 trouvée C:69.76 H:6.01

6) Phényl [2-O-(3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-2-O-tertbutyldiméthylsilyl- β -D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène α -D-mannopyranosyl] sulfoxyde (7).



15 3.0 g (3.31mmol, 1 éq) de 5 sont dissous dans 40 mL de dichlorométhane anhydre. Après avoir refroidi le milieu réactionnel à -78°C, 0.97 g (5.5 mmol, 1.7 éq) d'acide 3-chloroperoxybenzoïque à 85 % préalablement
 20 dissous dans 15mL de dichlorométhane sont ajoutés à l'aide d'une canule. Après 15 mn d'agitation à -78°C, la température est laissée remonter à -30°C et quelques gouttes de diméthylsulfure sont additionnées. La phase organique est alors lavée par une solution
 25 d'hydrogénocarbonate de sodium, une solution aqueuse de NaCl, séchée (MgSO₄), filtrée et évaporée sous vide. Une chromatographie sur gel de silice (élution :cyclohexane/acétate d'éthyle=4/1, puis 3/1) du brut donne

2.8 g (91%) d'un premier diastéréomère 7 sous forme d'une mousse blanche et 71 mg (2%) d'un deuxième diastéréomère sous forme également d'une mousse blanche.

Caracteristiques du diastéréomère majoritaire
 5 pf : 89-91°C(hexane) ; $[\alpha]_D -99$ (c 1, chloroforme)

$^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 7.65-7.4m(25H, arom.), 5.63 et 5.62 (2s, 2H, by), 4.89 (1d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.85 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.4\text{Hz}$, CHPh), 4.81 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.1\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.4\text{Hz}$, H-2A), 4.78 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.4\text{Hz}$, CHPh), 4.76 (1d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.42 (d, 1H, $J_{1-2}=1.1\text{Hz}$, H-1A), 4.37 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=10.1\text{Hz}$, H-4A), 4.33 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.4\text{Hz}$ et $J_{3-4}=10.1\text{Hz}$, H-3A), 4.28 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.2\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.8\text{Hz}$, H-6Ab), 4.26 (se, 1H, H-1B), 4.18-4.10 (m, 3H, H-5A, H-6Bb et H-4B), 4.08 (de, 1H, $J_{2-3}=2.8\text{Hz}$, H-2B), 3.75 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.1\text{Hz}$, H-6Aa), 3.74 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=J_{6b-5}=10.2\text{Hz}$, H-6Ba), 3.52 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.8\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.7\text{Hz}$, H-3B), 3.18 (dt, 1H, $J_{5-4}=J_{5-6a}=9.8\text{Hz}$ et $J_{5-6}=4.8\text{Hz}$, H-5B), 1 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0.22 et 0.17 (2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

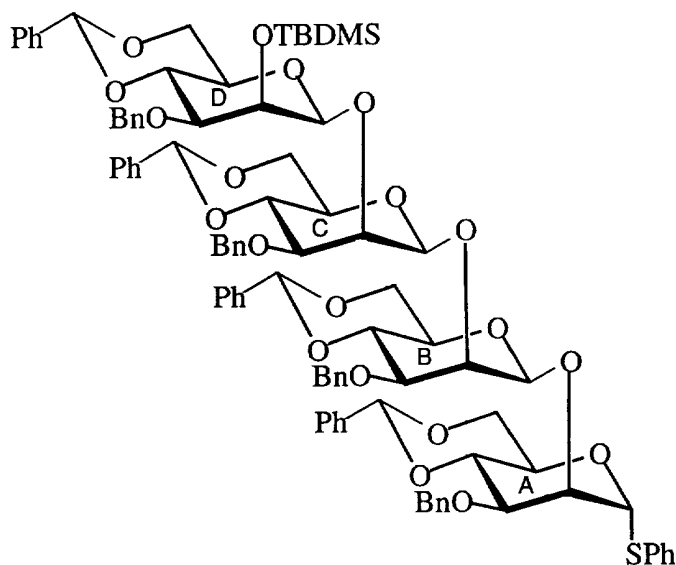
$^{13}\text{C R.M.N.}$ (100 MHz) : δ 141.3, 138.4, 138.3, 137.5, 137 (5 C arom.), 131.8-124.3 (25 CH arom), 101.7 (CH by), 101.4 (CH by), 99.8 ($^1J_{\text{CH}}=156\text{Hz}$, C-1B), 97.5 ($^1J_{\text{CH}}=163\text{Hz}$, C-1A), 78.7 (C-4B), 77.5 (C-3B), 77.1 (C-4A), 74.2 (C-3A), 72.4 (CH_2Ph), 71.7 (C-2B), 71.4 (C-2A), 70.9 (CH_2Ph), 70.1 (C-5A), 68.4 (C-6B), 68.1 (C-6A), 67.5 (C-5B), 26 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 18.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -4 (SiCH_3), -4.5 (SiCH_3).

Analyse pour $\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{O}_{10}\text{S}$ (921.198) : calculée
 C:67.8 H:6.56 trouvée C:67.68 H:6.90

30

7) Phényl 2-O-(2-O-(2-O-(3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-2-O-tertbutyldiméthyl silyl- β -D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène- β -D-mannopyranosyl)-3-O-

benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-1-thio-α-D-mannopyranoside (8).



Le protocole expérimental est le même que celui de la synthèse du disaccharide 5. On obtient à partir de 6 (1.140g, 2éq) et 7 (0.664g, 1éq) le composé 8 (580 mg, 55%) d'une mousse blanche après une chromatographie sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=85/15). pf : 111-114°C (hexane); $[\alpha]_D -53.5$ (c 0.6, chloroforme)

$^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 7.5-7.15m(45H, arom.), 5.615*2, 5.61 et 5.6 (4s, 4H, by), 5.53 (d, 1H, $J_{1-2}=1.1\text{Hz}$, H-1A), 5.35 (se, 1H, H-1B), 5.03 (se, 1H, H-1C), 4.82 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.8\text{Hz}$, CHPh), 4.76 (s, 2H, CH_2Ph), 4.73 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.8\text{Hz}$, CHPh), 4.72 (se, 1H, H-1D), 4.72 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.6\text{Hz}$, CHPh), 4.67 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=17.7\text{Hz}$, CHPh), 4.57 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.6\text{Hz}$, CHPh), 4.58-4.57 (m, 1H, H-2A), 4.57 (de, 1H, $J_{2-3}=3.2\text{Hz}$, H-2B), 4.57 (2de, 2H, $J_{2-3}=3.2\text{Hz}$, H-2C et H-2D), 4.42-4.37 (m, 1H, H-5A), 4.39-4.35 (m, 2H, H-6Db et H-6Bb), 4.38 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.7\text{Hz}$, CHPh), 4.29 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.2$ et $J_{6b-5}=4.8\text{Hz}$, H-6Ab), 4.24 (dd, 1H, $J_{4-3}=10$ et $J_{4-5}=9.6\text{Hz}$, H-4B), 4.16 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.7\text{Hz}$, H-4C), 4.13 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.2$ et $J_{6b-5}=4.7\text{Hz}$, H-6Cb), 4.05 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=10\text{Hz}$, H-4A), 4.02

(t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=10\text{Hz}$, H-4D), 4.05-4.02 (m, 1H, H-3A), 4
 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.3\text{Hz}$, H-6Ba), 3.89 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.2\text{Hz}$, H-6Da), 3.8 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.2\text{Hz}$, H-6Aa), 3.79 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.2\text{Hz}$, H-6Ca), 3.69 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.2\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.9\text{Hz}$, H-3D), 3.58
 5 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.7\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.7\text{Hz}$, H-3C), 3.55 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.2\text{Hz}$ et $J_{3-4}=10\text{Hz}$, H-3B), 3.49 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.6\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=10.3\text{Hz}$ et $J_{5-6a}=4.8\text{Hz}$, H-5B), 3.42 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.8\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=4.8\text{Hz}$ et $J_{5-6a}=10.2\text{Hz}$, H-5D), 3.31
 10 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.7\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=4.75\text{Hz}$ et $J_{5-6a}=10.1\text{Hz}$, H-5D), 0.95 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.25 et 0.14 (2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

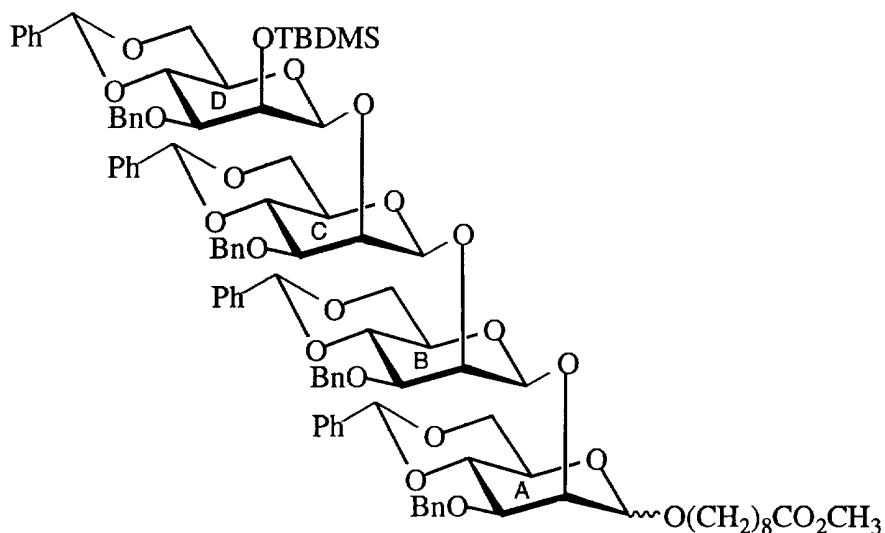
^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 138.6, 138.4, 138.1, 138, 137.7, 137.4, 136.95, 136.93, 133.2 (9 C arom.),
 15 131.65-126 (45 CH arom), 103.1 ($^1J_{\text{CH}}=159\text{Hz}$, C-1C), 102.05 (CH by), 102.02 (CH by), 101.6 (CH by), 101.2 (CH by), 101.19 ($^1J_{\text{CH}}=158.5\text{Hz}$, C-1B), 99 ($^1J_{\text{CH}}=167\text{Hz}$, C-1A), 85.4 ($^1J_{\text{CH}}=159.2\text{Hz}$, C-1D), 79.7 (C-3C), 79.05 (C-4C), 78.9 (C-4A), 78.5 (C-4D), 77.6 (C-4B), 76.9 (C-3B), 75.8 (C-3D),
 20 75.3 (C-2B), 75.2 (C-2A), 74.4 (C-3A), 73.1 (C-2C ou C-2D), 72.8 (CH_2Ph), 71.9 (CH_2Ph), 71.2 (C-2C ou C-2D), 70.9 (CH_2Ph), 70.1 (CH_2Ph), 68.8 (C-6A), 68.7 (C-6D et C-6B), 68.5 (C-6C), 68.1 (C-5B), 67.8 (C-5C), 67.7 (C-5D), 65.1 (C-5A), 26.1 (C(CH_3)₃), 18.5 (C(CH_3)₃), -3.7 (SiCH₃), -4.7
 25 (SiCH₃).

Spectre de masse : m/z 1602 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₉₂H₁₀₀O₂₀SSi (1585.956) : calculée
 C:69.67 H:6.35 trouvée C:69.57 H:6.41

30 8) 8-méthoxycarbyloctyl 2-O-(2-O-(2-O-(3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-2-O-tertbutyldiméthyl silyl-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-

mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-D-
mannopyranoside (10).



562 mg (354 μmol , 1 eq) de 8, 166 mg (885 μmol ,
 2.5 eq) du méthoxycarbonyloctan-1-ol (préparé selon H.
 Gerlach, P. Künzler, K. Oertle, *Helv Chim. Acta*, 61 (1978),
 1226-1231.) et 700 mg de tamis moléculaire 4Å en poudre
 sont mis en suspension dans 10 mL de dichlorométhane
 anhydre. Le tout est mis sous atmosphère d'argon et agité
 durant 30mn. La solution est refroidie à -20°C et 126 mg
 (709 μmol , 2 eq) de N-bromosuccinimide ainsi que 6.3 μL
 (7.08 μmol , 0.2 eq) d'acide trifluorométhanesulfonique y
 sont ajoutés. Après 1 heure à -20°C , une solution
 d'hydrogénocarbonate de sodium est additionnée. Le tout est
 filtré sur un lit de célite. La phase organique est lavée
 par une solution de thiosulfate de sodium et par une
 solution aqueuse de NaCl. Celle-ci est ensuite séchée sur
 sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous vide. Le
 brut est chromatographié sur gel de silice
 (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=3.5/1) et fournit 412
 mg (70%) du composé 10 ($\alpha/\beta=1/6$) non séparables sous la
 forme d'une mousse blanche.

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) du produit β -O-
 connecteur : δ 7.48-7.16m, 40H, arom.), 5.64, 5.62 et 5.6,
 5.34 (4s, 4H, by), 5.34 (s, 1H, H-1A), 5.16 (s, 1H, H-1B),

4.86 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.84 (s, 1H, H-1C), 4.82 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.79 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.4\text{Hz}$, CHPh), 4.74 (d, 1H, $J_{2-3}=3.2\text{Hz}$, H-2C), 4.73 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.68 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.67 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.65 (d, 1H, $J_{2-3}=3.4\text{Hz}$, H-2A), 4.63 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.4\text{Hz}$, CHPh), 4.56 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.51 (d, 1H, $J_{2-3}=3.2\text{Hz}$, H-2B), 4.47 (s, 1H, H-1D), 4.41 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.4\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.8\text{Hz}$, H-6Cb), 4.36 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.3\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.8\text{Hz}$, H-6Ab), 4.32 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.3\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.5\text{Hz}$, H-6Db), 4.28 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.6\text{Hz}$, H-4A), 4.23 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.4\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.6\text{Hz}$, H-6Bb), 4.21 (d, 1H, $J_{2-3}=3.15\text{Hz}$, H-2D), 4.17 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.3\text{Hz}$, H-4B), 4.01 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.3\text{Hz}$, H-6Aa), 3.99 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.5\text{Hz}$, H-4C), 3.91 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.4\text{Hz}$, H-6Ca), 3.95-3.88 (m, 1H, -O-CH-CH₂-), 3.88 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.8\text{Hz}$, H-4D), 3.85 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.4\text{Hz}$, H-6Ba), 3.69 (s, 3H, -C:O-OCH₃), 3.64 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.2\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.5\text{Hz}$, H-3C), 3.6 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.4\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.6\text{Hz}$, H-3A), 3.59 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.15\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.8\text{Hz}$, H-3D), 3.60-3.57 (m, 1H, H-6Da), 3.54 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.2\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.3\text{Hz}$, H-3B), 3.5-3.27 (m, 5H, H-5A, H-5B, H-5C, H-5D et -O-CH-CH₂-), 2.31 (t, 2H, $J_{3-2}=7.5\text{Hz}$, -CH₂C:O-OCH₃), 1.64-1.58, 1.34-1.31 (m, 12H, -CH₂-), 0.94 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.25 et 0.14 (2s, 6H, Si(CH₃)₂).

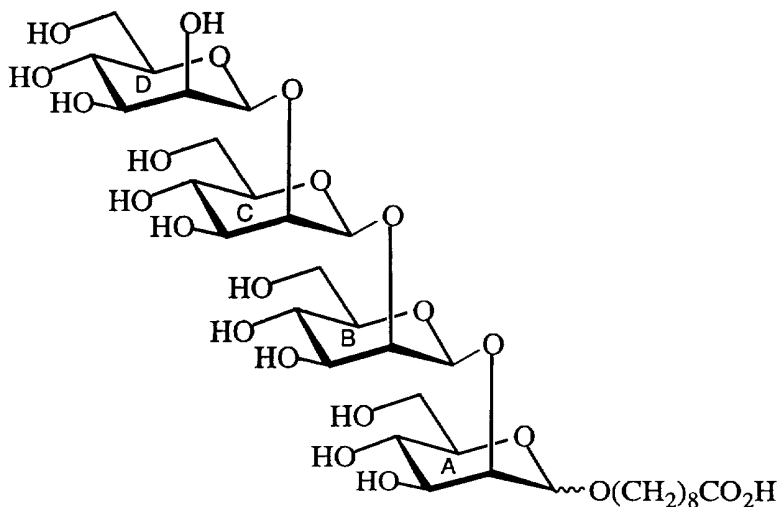
¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 138.5, 138.4, 138.39, 138.2, 137.7, 137.5, 137.1, 137.08 (8 C arom.), 129-126 (40 CH arom), 103.9 (159.7C-1C), 102.7 ($^1J_{\text{CH}}=160\text{Hz}$, C-1D), 101.8 (CH by), 101.6 (CH by), 101.58 ($^1J_{\text{CH}}=155\text{Hz}$, C-1A), 101.5 (CH by), 101.35 ($^1J_{\text{CH}}=158.5\text{Hz}$, C-1B), 101.2 (CH by), 79.9 (C-3B), 78.97 (C-4B), 78.46 (C-4D), 78.4 (C-4C), 77.9

(C-4A), 77.6 (C-2D), 76.29 (C-3D), 76.27 (C-3C), 76.23 (C-3A), 75.22 (C-2A), 72.83 (C-2C), 72.8 (CH₂Ph), 71.9 (CH₂Ph), 71.16 (C-2B), 70.62 (CH₂Ph), 70.14 (-O-CH₂-), 69.8 (CH₂Ph), 68.87, 68.82*2, 68.5 (C-6A, C-6B, C-6C et C-6D),
 5 67.88 (C-5B), 67.83 (C-5C), 67.7 (C-5A), 67.4 (C-5D), 34 (-CH₂-C:O-O-CH₃), 29.5, 29.2, 29.1, 29, 25.5, 24.8 (-CH₂-), 25.9 (C(CH₃)₃), 18.5 (C(CH₃)₃), -3.7 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

Spectre de masse : m/z 1663.7 (M+H)⁺.

10 Analyse pour C₉₆H₁₁₄O₂₃Si (1664.03) : calculée C:69.29 H:6.905 trouvée C:69.13 H:7.06

9) 8-carboxyloctyl 2-O-(2-O-(2-O-(β-D-mannopyranosyl)-β-D-mannopyranosyl)-β-D-mannopyranosyl)-D-mannopyranoside (I, R=connecteur).



15

- Etape 1: désilylation

305 mg (183 μmol, 1 éq) du composé 10 et 405 mg (1.28 mmol, 7 éq) de fluorure de tetrabutylammonium trihydrate sont mis en solution dans 10 mL de tetrahydrofurane. Après 12 heures de chauffage à 60°C, le milieu réactionnel est dilué par du dichlorométhane et lavé par de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous pression réduite. La chromatographie du brut sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=2/1) fournit 230 mg
 20
 25

(80%) du produit désilylé sous la forme d'une mousse blanche.

Etape 2 : saponification

140 mg (85 μ mol) du produit précédent sont
 5 dissous dans 5 mL de tetrahydrofurane. A cela sont ajoutés
 4.5 mL (0.1N) d'hydroxyde de sodium. Le tout est chauffé à
 60°C durant une nuit. La solution est alors acidifiée par
 une solution d'acide chlorhydrique (1M) et extraite 3 fois
 par du dichlorométhane. La phase organique est séchée sur
 10 $MgSO_4$, filtrée et évaporée sous vide. La chromatographie du
 brut sur gel de silice (élution : dichlorométhane /
 méthanol=50/1) fournit 115 mg (82%) du produit sous la
 forme d'une mousse blanche.

Etape 3 : hydrogénolyse

15 66mg (42 μ mol) du produit précédent sont
 dissous dans 2 mL de méthanol et agités sous atmosphère de
 dihydrogène (1.4bar) en présence de Pd/C (10 %) en quantité
 catalytique pour donner (I, R=connecteur) (29.3 mg, 83%),
 après lyophilisation, sous forme d'une poudre blanche
 20 amorphe. (mélange α/β 1/6 au niveau de l'aglycone)

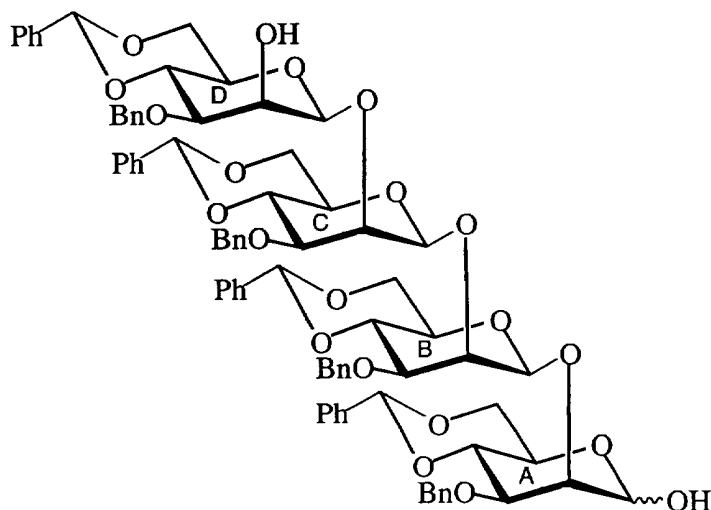
1H -R.M.N. (400MHz, D_2O) du produit β -O-
 connecteur : δ 4.99 (se, 1H, H-1A), 4.89 (se, 1H, H-1B),
 4.84 (se, 1H, H-1C), 4.68 (se, 1H, H-1D), 4.36 (d, 1H, J 2-
 3=3Hz, H-2A), 4.28 (d, 1H, J 2-3=3.2Hz, H-2C), 4.18 (d, 1H,
 25 J 2-3=3.19Hz, H-2D), 4.11 (d, 1H, J 2-3=3.2Hz, H-2B), 3.9-
 3.84 (m, 5H, H-6Ab, H-6Bb, H-6Cb, H-6Db et -O-CH-CH₂),
 3.73-3.65 (m, 4H, H-6Aa, H-6Ba, H-6Ca, H-6Da), 3.63 (dd,
 1H, J 3-2=3.19Hz et J 3-4=9.7Hz, H-3D), 3.62-3.57 (m, 2H, -
 O-CH-CH₂ et H-3C), 3.59 (dd, 1H, J 3-2=3Hz et J 3-4=10.3Hz,
 30 H-3A), 3.57 (dd, 1H, J 3-2=3.2Hz et J 3-4=9.7Hz, H-3B),
 3.55 (t, 1H, J 4-3= J 4-5=10.3Hz, H-4A), 3.51 (t, 1H, J 4-
 3= J 4-5=9.7Hz, H-4B), 3.46 (t, 1H, J 4-3= J 4-5=9.7Hz, H-
 4C), 3.44 (t, 1H, J 4-3= J 4-5=9.7Hz, H-4D), 3.36-3.3 (m,
 4H, H-5A, H-5B, H-5C et H-5D), 2.25 (t, 2H, J CH₂-

CH₂=7.4Hz, -CH₂-COOH), 1.6-1.52 et 1.3-1.28 (m, 12H, -CH₂-).

¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 181.7 (COOH), 101.58, 101.46, 101.26, 100.32 (C-1A, C-1B, C-1C, C-1D), 79.5, 79.3, 78.7, 76.6, 76.5*3, 73.2, 72.6, 72.3*2, 70.7, 67.8, 67.4, 67.2, 67.1, 61.5, 61.06, 61.02, 60.9 (20 CH cycle), 70.4 (-O-CH₂-), 34 (-CH₂-CO₂H), 29, 28.7, 28.65, 28.6, 25.7, 25.5 (6 -CH₂-).

Spectre de masse (FAB) m/z calculé C₃₃H₅₈O₂₃Na :
845.32. Trouvé 845.24

10) 2-O-(2-O-(2-O-(3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranose (9).



Etape 1: désilylation

Pour le protocole expérimental, voir l'étape 1 du composé I (R=connecteur).

20 8 (235 mg) traité par le fluorure de tetrabutylammonium donne du phényl 2-O-(2-O-(2-O-(3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-1-thio-α-D-mannopyranoside (202 mg, 92%) sous

la forme d'une mousse blanche, après une chromatographie sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=2.5/1) et après une recristallisation dans du méthanol.

5 pf : 133-136°C(méthanol); $[\alpha]_D$ -42 (c 0.5, chloroforme)

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) : δ 7.57-7.32m(45H, arom.), 5.73, 5.71, 5.67 et 5.66 (4s, 4H, by), 5.64 (s, 1H, H-1A), 5.36 (s, 1H, H-1B), 4.92 (s, 1H, H-1D), 4.86 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.1\text{Hz}$, CHPh), 4.83 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.79 (s, 1H, H-1C), 4.78 (s, 2H, CH_2Ph), 4.77 (2d, 2H, 2CHPh), 4.71 (d, 1H, $J_{2-3}=3.2\text{Hz}$, H-2A), 4.69 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.64 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.61 (d, 1H, $J_{2-3}=3\text{Hz}$, H-2B), 4.53 (d, 1H, $J_{2-3}=3.4\text{Hz}$, H-2C), 4.51-4.46 (m, 1H, H-5A), 4.47 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.3\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.8\text{Hz}$, H-6Bb), 4.41-4.36 (m, 4H, H-6Ab, H-6Cb, H-6Db, H-2D), 4.36 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.7\text{Hz}$, H-4D), 4.32 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.8\text{Hz}$, H-4B), 4.21 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.7\text{Hz}$, H-4C), 4.13-4.11 (m, 2H, H-4A et H-3A), 4.08 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10\text{Hz}$, H-6Ba), 3.98 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=10.4$ et $J_{6a-5}=9.7\text{Hz}$, H-6Ca), 3.95 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=10.1$ et $J_{6a-5}=9.7\text{Hz}$, H-6Da), 3.91 (t, 1H, $J_{6a-6b}=J_{6a-5}=10.2\text{Hz}$, H-6Aa), 3.75 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.4\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.7\text{Hz}$, H-3C), 3.65 (dd, 1H, $J_{3-2}=3\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.8\text{Hz}$, H-3B), 3.56 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.8\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=4.8\text{Hz}$ et $J_{5-6a}=9.8\text{Hz}$, H-5B), 3.53 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.1\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.6\text{Hz}$, H-3D), 3.44 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.7\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=9.7\text{Hz}$ et $J_{5-6a}=4.7\text{Hz}$, H-5C), 3.35 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.7\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=9.7\text{Hz}$ et $J_{5-6a}=4.9\text{Hz}$, H-5D), 3.28 (se, 1H, OH).

30 ^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 138.2*2, 137.9, 137.8, 137.5, 137.2, 137.04, 136.8, 133.05 (9 C arom.), 131.5-125.9 (45 CH arom), 102.1 (CH by), 101.5 (CH by), 101.48 (C-1D), 101.26 (CH by), 101.15 (CH by), 101 (C-1B), 98.2

(C-1C), 85.14 (C-1A), 78.98 (C-4A), 78.4 (C-4D), 78 (C-4B),
77.98 (C-4C), 77.7 (C-3B), 76.9 (C-3D), 75.3 (C-3C), 74.6
(C-3A), 74.4 (C-2A), 74.3 (C-2C), 74.1 (C-2B), 72.4
(CH₂Ph), 71.8*2 (CH₂Ph), 71 (CH₂Ph), 68.9 (C-2D), 68.6 (C-
5 6D), 68.5 (C-6A), 68.4 (C-6B), 68.25 (C-6C), 67.8 (C-5B et
C-5C), 66.8 (C-5D), 64.9 (C-5A).

Spectre de masse : m/z 1488 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₈₆H₈₆O₂₀S.1CH₃OH (1503.67) :
calculée C:69.49 H:6.03 trouvée C:69.28 H:5.92

10 Etape 2 : hydrolyse du thiophényl

175 mg (119 µmol, 1 éq) du composé précédent
sont dissous dans un mélange de solvants
acétone/eau=4.5mL/0.5mL. Le tout est refroidi à 0°C. A cela
sont ajoutés 106 mg (0.595 mmol, 5 éq) de N-
15 bromosuccinimide. Une solution d'hydrogénocarbonate de
sodium est versée dans le ballon après 30 mn d'agitation à
0°C. L'acétone est alors évaporée sous vide. Le résidu est
repris par du dichlorométhane, lavé par une solution de
thiosulfate de sodium et par une solution aqueuse de NaCl.
20 La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de
magnésium, filtrée et évaporée. Le brut est chromatographié
sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate
d'éthyle=1.8/1 puis 1.5/1) et donne 138 mg (Rdt=84%) du
composé 9 d'un mélange de configuration α/β (2.6/1) sous
25 forme d'une mousse blanche.

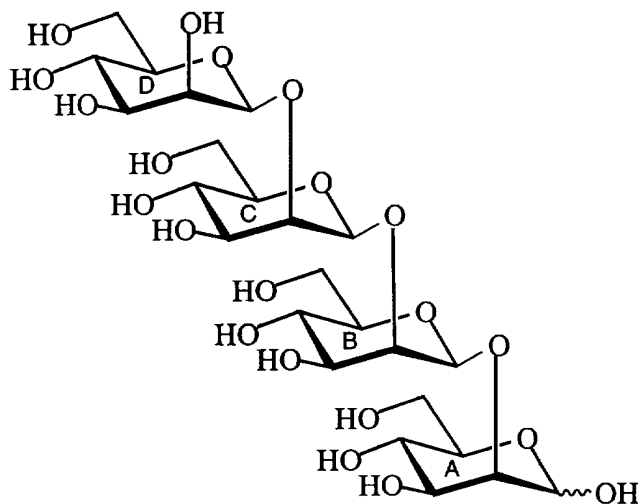
¹H-R.M.N. (400MHz, CDCl₃) du produit α-OH:
δ 5.52 (s, 1H, H-1B), 5.22 (de, 1H, J 1-OH=3Hz, H-1A), 4.78
(s, 1H, H-1D), 4.63 (s, 1H, H-1C).

¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 101.7 (C-1D), 101.1
30 (C-1B), 99.2 (C-1C), 92.09 (C-1A) et disparition du pic
caractéristique à 85.14 ppm de C-1A possédant un thiophénol
en tant qu'aglycone.

Spectre de masse : m/z 1396.8 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour $C_{80}H_{82}O_{21}$ (1379.529) : calculée
C:69.65 H:5.99 trouvée C:69.46 H:6.11

11) 2-O-(2-O-(2-O-(β -D-mannopyranosyl)- β -D-mannopyranosyl)- β -D-mannopyranosyl)-D-mannopyranose (I, R=H).



Pour le protocole expérimental, voir l'étape 3
du composé I (R=connecteur).

10 111.4 mg (80.7 μ mol) du composé 9 donne 46 mg
(85%) du composé I (R=H) après lyophilisation sous forme
d'une poudre amorphe.

1H -R.M.N. (400MHz, D_2O) du produit α -OH : δ 5.24
(d, 1H, $J_{1-2}=1.64$ Hz, H-1A), 4.91 (s, 1H, H-1C), 4.89 (s,
15 1H, H-1D), 4.81 (se, 1H, H-1B), 4.39 (d, 1H, $J_{2-3}=3.2$ Hz,
H-2C), 4.22 (d, 1H, $J_{2-3}=3.27$ Hz, H-2B), 4.11 (d, 1H, $J_{2-3}=3.1$ Hz, H-2D), 4.08 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.64$ Hz et $J_{2-3}=3.02$ Hz,
H-2A).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 101.53, 101.29, 99.46,
20 92.4 (C-1A, C-1B, C-1C, C-1D), 79.7, 79, 78.7, 76.6, 76.5,
76.4, 73.2, 72.67, 72.5, 72.2, 70.7, 69.4, 67.7, 67.4,
67.26, 67.1, 61.5, 61.1, 60.84, 60.7 (20 CH cycle).

Spectre de masse (FAB) m/z : calculée
 $C_{24}H_{42}O_{21}Na$: 689.21 obtenue : 689.32

Exemple 2 : Préparation de D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man, de formule (II).

5 I - Schéma réactionnel.

La figure 2 en annexe représente le schéma réactionnel de la préparation de D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man de formule (II). Comme dans l'exemple 1
10 une stratégie par bloc a été utilisée. Un groupe thiophényl protège intermédiairement le carbone anomère. Le composé 11 conduit selon la réaction mise en œuvre aux composés 12 ou 13, lesquels sont condensés en le disaccharide 14.

La réaction (a') est réalisée dans les
15 conditions suivantes : CH_3COOH , H_2O (80/20) puis CCl_3CN , DBU, CH_2Cl_2 , 0°C .

La réaction (b') est réalisée dans les conditions suivantes : PhSH , HgBr_2 , CH_3CN , 80°C puis CH_3ONa , CH_3OH .

20 La réaction (c') est réalisée dans les conditions suivantes : TMSOTf, tamis moléculaire 4 Angstrom, CH_2Cl_2 .

Le disaccharide 14 est transformé en disaccharides 15 et 16 lesquels sont condensés pour obtenir
25 le tetrasaccharide clé 17.

La réaction (d') est réalisée dans les conditions suivantes : NBS, eau, acétone, puis CCl_3CN , DBU, CH_2Cl_2 .

30 La réaction (e') est réalisée dans les conditions suivantes : MeONa , MeOH .

La réaction (f') est réalisée dans les conditions suivantes : 1) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, tamis moléculaire 4 Angstrom, CH_2Cl_2 ; 2) MeONa/MeOH .

35 Le tetrasaccharide clé 17 peut être ou non fonctionalisé en l'un des composés 18 ou 19 et donne après

déprotection le tétramannoside de formule (II) dans laquelle R est H ou $-(CH_2)_8-CO_2Me$.

La réaction (g') est réalisée dans les conditions suivantes : NBS, TfOH, 8-méthoxycarboxyloctanol, tamis moléculaire 4 Angstrom, CH_2Cl_2 , $-15^\circ C$.

La réaction (h') est réalisée dans les conditions suivantes : NBS, eau, acétone.

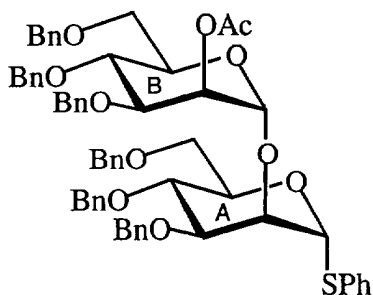
La réaction (i') est réalisée dans les conditions suivantes : 1- NaOH, THF, eau, 2- H_2 , Pd/C, MeOH.

La réaction (j') est réalisée dans les conditions suivantes : H_2 , Pd/C, MeOH.

II - Protocole expérimental.

Les composés 12 (F Yamazaki, S Sato, T Nukuda, Y. Ito, T Ogawa, *Carbohydr. Res.* 201 (1990) 31-50) et 13 (Y-M. Zhang, J.-M. Mallet, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* 236, (1992), 73-88.) sont préparés selon la littérature à partir de l'orthoester 11 (N. E. Franks R Montgomery, *Carbohydr. Res.* 6 (1968) 286-98)

1) Phényl 2-O-(2-O-acétyl-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl-1-thio- α -D-mannopyranoside (14).



Un mélange de 12 (F Yamazaki, S Sato, T Nukuda, Y. Ito, T Ogawa, *Carbohydr. Res.* 201 (1990) 31-50) (9.7 g, 15.24 mmol, 1.2 éq), 13 (Y-M. Zhang, J.-M. Mallet, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* 236, (1992), 73-88) (6.88 g, 12.7 mmol, 1 éq) et 17 g de tamis moléculaire 4Å en poudre dans

100 mL de dichlorométhane anhydre est agité sous atmosphère d'argon. Après 30 mn d'agitation, le milieu réactionnel est refroidi à -10°C . Du trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle (0.44 mL, 1.9 mmol, 0.15 éq) sont alors additionnés. 30mn plus tard, la solution est neutralisée par une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium. La phase organique est ensuite lavée par une solution de saumure, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée. La chromatographie du brut sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=6/1) fournit 14 (9.3 g, 72%) sous la forme d'une sirop incolore. $[\alpha]_{\text{D}} +93$ (c 0.55, chloroforme)

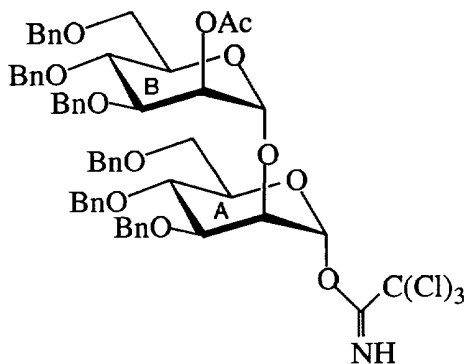
$^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 7.48–7.25m(35H, arom.), 5.69 (d, 1H, $J_{1-2}=1.62\text{Hz}$, H-1A), 5.58 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.7\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2B), 5.13 (d, 1H, $J_{1-2}=1.7\text{Hz}$, H-1B), 4.94 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.87 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.79 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.75 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.8\text{Hz}$, CHPh), 4.71 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.69 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.64 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.6 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.52 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.47 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.45 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.43 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.33 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.3\text{Hz}$, $J_{5-6a}=1.7\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=5.2\text{Hz}$, H-5A), 4.28 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.62\text{Hz}$ et $J_{2-3}=2.8\text{Hz}$, H-2A), 4.03 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.3\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.4\text{Hz}$, H-3B), 4.03–3.97 (m, 1H, H-5B), 3.99 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.3\text{Hz}$, H-4A), 3.94 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.8\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.3\text{Hz}$, H-3A), 3.88 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.4\text{Hz}$, H-4B), 3.88 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.1\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=5.2\text{Hz}$, H-6Ab), 3.77 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.1\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=1.7\text{Hz}$, H-6Aa), 3.74 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.6\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.5\text{Hz}$, H-6Bb), 3.77 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.6\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=1.7\text{Hz}$, H-6Ba), 2.19 (s, 3H, $-\text{C}:\text{O}-\text{OCH}_3$).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 170.2 (-C:O-OCH₃),
 138.4, 138.3, 138.27, 138, 137.98, 137.9, 131.6 (7 C
 arom.), 129-127.3 (35 CH arom), 99.7 ($^1J_{\text{CH}}=169.2\text{Hz}$, C-1B),
 87.1 ($^1J_{\text{CH}}=168.8\text{Hz}$, C-1A), 79.89 (C-3A), 78 (C-3B), 76.6
 5 (C-2A), 75.2 (CH₂Ph), 75 (CH₂Ph), 74.7 (C-4A), 74.3 (C-4B),
 73.1 (2 CH₂Ph), 72.8 (C-5A), 72.2 (CH₂Ph), 71.9 (CH₂Ph),
 71.9 (C-5B), 69.1 (C-6A), 68.7 (C-2B), 68.5 (C-6B), 21.1 (-
 C:O-OCH₃).

Spectre de masse : m/z 1034.4 (M+NH₄)⁺.

10 Analyse pour C₆₂H₆₄O₁₁S (1017.256) : calculée
 C:73.20 H:6.35 trouvée C:72.98 H:6.65

15 2) O-[2-O-(2-O-acétyl-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl et β -D-mannopyranosyl] trichloroacétimide (15).



20 14 (3 g, 2.95 mmol, 1 éq) est dissous dans 150
 mL d'un mélange acétone/eau:95/5. A cette solution sont
 ajoutés 2.6 g (11.8 mmol, 4 éq) de N-bromosuccinimide.
 Après 15 mn d'agitation, une solution d'hydrogénocarbonate
 de sodium est ajoutée et l'acétone est évaporée sous vide.
 Le résidu est repris par du dichlorométhane et lavé par une
 solution de saumure. Une flash chromatographie sur gel de
 silice du brut fournit 2.37 g (Rdt=87%) du produit OH libre
 25 en position réductrice sous forme d'une huile incolore.
 Cette huile ainsi obtenue est dissoute dans 10 mL de
 dichlorométhane anhydre. 3.08 mL (12 éq) de

trichloroacétonitrile sont ajoutés, la solution est refroidie à 0°C et 115 μ L (0.3 éq) de 1,8-diazabicyclo-[5.4.0]undec-7-ène sont alors additionnés au milieu. Après 20 mn, la solution est injectée directement sur un gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=3/1) et 2.2 g (Rdt=81% sur les deux étapes) du composé 15 α très majoritaire ($\alpha/\beta=92/8$) sont ainsi obtenus sous la forme d'une huile incolore.

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) du produit α -O-Imidate : δ 8.55 (s, 1H, C=NH), 7.39-7.25 (m, 30H, arom.), 6.36 (d, 1H, $J_{1-2}=1.95\text{Hz}$, H-1A), 5.67 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.6\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.4\text{Hz}$, H-2B), 5.2 (d, 1H, $J_{1-2}=1.6\text{Hz}$, H-1B), 4.95 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.6\text{Hz}$, CHPh), 4.89 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.81 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.9\text{Hz}$, CHPh), 4.75 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.73 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.9\text{Hz}$, CHPh), 4.71 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.7 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.6\text{Hz}$, CHPh), 4.65 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.6\text{Hz}$, CHPh), 4.55 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.6\text{Hz}$, CHPh), 4.52 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.51 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.45 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.13 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.95\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2A), 4.09 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.7\text{Hz}$, H-4A), 4.08-3.97 (m, 5H, H-5A, H-5B, H-3A, H-3B et H-4B), 3.89 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.5\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=3.6\text{Hz}$, H-6Ab), 3.86 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.6\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.1\text{Hz}$, H-6Bb), 3.78 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.5\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=1.1\text{Hz}$, H-6Aa), 3.75 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.6\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=1\text{Hz}$, H-6Ba), 2.2 (s, 3H, -C:O-OCH₃).

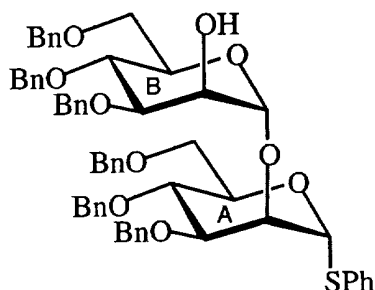
^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 170.25 (-C:O-OCH₃), 159.98 (-C=NH), 138.4, 138.3, 138.15, 138.07, 137.9, 137.88 (6 C arom.), 128.4-127.4 (30 CH arom), 99.5 (C-1B), 96.7 (C-1A), 78.5 (C-3A), 78.1 (C-3B), 75.4 (CH₂Ph), 75.1 (CH₂Ph), 74.7 (C-5B), 74.1 (C-4B), 73.8 (C-4A), 73.3 (CH₂Ph), 73.2 (CH₂Ph), 73 (C-2A), 72.4 (CH₂Ph), 71.97

(CH₂Ph), 71.9 (C-5A), 68.62 (C-2B), 68.58 (C-6B), 68.51 (C-6A), 21.15 (-C:O-OCH₃).

Pas d'analyse élémentaire pour ces composés peu stables.

5

3) Phényl 2-O-(3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl-1-thio- α -D-mannopyranoside (16).



10

14 (6 g, 5.9mmol) est dissous dans 40 mL d'un mélange toluène/méthanol:1/1. A cela est ajouté du sodium (cat.). Après 15 mn, la solution est neutralisée par de la résine amberlite IR 120 (H⁺), filtrée et concentrée. Une chromatographie sur gel de silice (élution :cyclohexane / acétate d'éthyle=3/1) du brut fournit 16 (5.45 g, 95%) sous forme d'un sirop incolore. $[\alpha]_D +93.6$ (c 0.51, chloroforme)

15

20

25

¹H-R.M.N. (400MHz, CDCl₃) : δ 7.5-7.2m (35H, arom.), 5.76 (d, 1H, $J_{1-2}=1.6$ Hz, H-1A), 5.22 (d, 1H, $J_{1-2}=1.6$ Hz, H-1B), 4.95 (d, 1H, $J_{gem}=10.7$ Hz, CHPh), 4.85 (d, 1H, $J_{gem}=10.9$ Hz, CHPh), 4.77 (s, 2H, CH₂Ph), 4.75 (d, 1H, $J_{gem}=12$ Hz, CHPh), 4.66 (d, 1H, $J_{gem}=10.7$ Hz, CHPh), 4.65 (d, 1H, $J_{gem}=11.3$ Hz, CHPh), 4.6 (d, 1H, $J_{gem}=11.3$ Hz, CHPh), 4.57 (d, 1H, $J_{gem}=12.4$ Hz, CHPh), 4.55 (d, 1H, $J_{gem}=12$ Hz, CHPh), 4.52 (d, 1H, $J_{gem}=10.9$ Hz, CHPh), 4.45 (d, 1H, $J_{gem}=12.4$ Hz, CHPh), 4.37-4.33 (m, 1H, H-5A), 4.34 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.6$ Hz et $J_{2-3}=2.7$ Hz, H-2A), 4.21-4.18 (m, 1H, H-2B), 4.01 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.3$ Hz, H-4A), 4.03-3.98 (m, 1H, H-5B), 3.96 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.7$ Hz et $J_{3-4}=9.3$ Hz, H-3A),

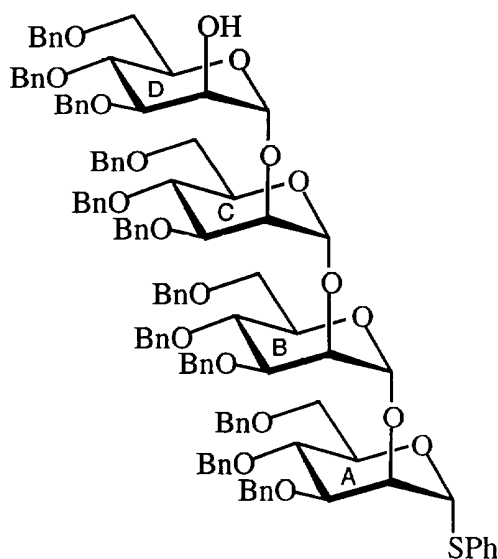
3.95 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.2\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.6\text{Hz}$, H-6Ab), 3.93 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.1\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.4\text{Hz}$, H-3B), 3.87 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.4\text{Hz}$, H-4B), 3.8 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.2\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=1.6\text{Hz}$, H-6Aa), 3.71 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.6\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.9\text{Hz}$, H-6Bb), 3.64 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.6\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=1.9\text{Hz}$, H-6Ba), 2.53 (d, 1H, $J_{\text{OH}-2}=1.6\text{Hz}$, OH).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 138.5, 138.3, 138.2, 138, 137.9, 137.86, 131.5 (7 C arom.), 128.9-127.3 (35 CH arom), 101.2 (C-1B), 87.2 (C-1A), 79.99 (C-3A), 79.9 (C-3B), 76.5 (C-2A), 75.1 (CH₂Ph), 75 (CH₂Ph), 74.8 (C-4A), 74.2 (C-4B), 73.13 (CH₂Ph), 73.1 (CH₂Ph), 72.8 (C-5A), 72.3 (CH₂Ph), 72.1 (CH₂Ph), 71.6 (C-5B), 69.1 (C-6A), 68.5 (C-6B), 68.47 (C-2B).

Spectre de masse : m/z 992.6 (M+NH₄)⁺.

15 Analyse pour C₆₀H₆₂O₁₀S (975.218) : calculée C:73.89 H:6.408 trouvée C:74.15 H:6.90

20 4) Phényl 2-O-(2-O-(2-O-(3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl-1-thio- α -D-mannopyranoside (17).



Un mélange de 16 (200 mg, 187 μmol , 1 éq), 15 (364 mg, 374 μmol , 2 éq), de 600 mg de tamis moléculaire 4 Å dans 6 mL de dichlorométhane anhydre est agité durant 30 mn sous atmosphère d'argon et refroidi à -10°C . Puis 71 μL (3 éq) d'éthérate de trifluorure de bore sont additionnés. Après 40 mn à -10°C , l'ensemble est neutralisé par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium. Après une filtration sur un lit de célite, la phase organique est lavée par une solution de saumure, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous vide. Le résidu est chromatographié (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=6/1) et fournit 211 mg (Rdt=60%) d'une huile incolore. L'analyse par ^1H -R.M.N montre la présence de deux produits, l'un de stéréochimie α au niveau de la liaison nouvellement créée et l'autre β . Ceux-ci sont malheureusement non séparables par chromatographie sur gel de silice. Le mélange est alors dissous dans un mélange toluène/méthanol et du sodium (cat.) y est ajouté. Après 15 mn, la solution est neutralisée par de la résine amberlite IR 120 (H+), filtrée et évaporée sous vide. Le résidu est chromatographié (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=5/1) et fournit le produit 17 (153 mg, 71%)

Caractéristiques de 17[α]_D +48.7 (c 0.36, chloroforme)

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) : δ 7.51-7.23m(60H, arom.), 5.83 (d, 1H, $J_{1-2}=1.4\text{Hz}$, H-1A), 5.35 (d, 1H, $J_{1-2}=1.4\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.3 (d, 1H, $J_{1-2}=1.6\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.21 (d, 1H, $J_{1-2}=1.5\text{Hz}$, H-1D), 4.91 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.7\text{Hz}$, CHPh), 4.9 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.89 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.6\text{Hz}$, CHPh), 4.84 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.71 (2d, 2H, $J_{\text{gem}}=12.2\text{Hz}$, 2 CHPh), 4.69 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.3\text{Hz}$, CHPh), 4.67 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.3\text{Hz}$, CHPh), 4.65 (s, 2H, CH_2Ph), 4.64 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.3\text{Hz}$, CHPh), 4.61 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.59 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh),

4.56 (3d, 3H, 3 CHPh), 4.54 (d, 1H, $J_{gem}=12.2\text{Hz}$, CHPh),
 4.53 (d, 1H, $J_{gem}=11.3\text{Hz}$, CHPh), 4.51 (d, 1H, $J_{gem}=10.8\text{Hz}$, CHPh), 4.49 (d, 1H, $J_{gem}=11.9\text{Hz}$, CHPh), 4.47
 (d, 1H, $J_{gem}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.46 (d, 1H, $J_{gem}=12.8\text{Hz}$,
 5 CHPh), 4.36 (d, 1H, $J_{gem}=11.9\text{Hz}$, CHPh), 4.36-4.34 (m, 2H,
 H-2A et H-5A, B, C ou D), 4.24 (d, 1H, $J_{gem}=12.3\text{Hz}$, CHPh),
 4.21 (m, 1H, H-2D), 4.19 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.6\text{Hz}$ et $J_{2-3}=2.4\text{Hz}$, H-2B ou H-2C), 4.17 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.4\text{Hz}$ et $J_{2-3}=2.4\text{Hz}$, H-2B ou H-2C), 4.04-3.95 (m, 6H, H-3D, H-3B ou H-
 10 3C, H-4A, B, C ou D, 3*H-5A, B, C u D), 3.97-3.88 (m, 4H,
 H-3A, H-3B ou H-3C et 2*H-4A, B, C ou D), 3.83-3.56 (m, 5H,
 H-4A, B, C ou D, H-6A, H-6B, H-6C et H-6D), 2.47 (d, 1H, $J_{OH-2}=2.25\text{Hz}$, OH).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 138.47*2, 138.44,
 15 138.4*2, 138.32*2, 138.29, 138.2, 138.05, 138, 137.9, 134.2
 (13 C arom.), 128.8-127.2 (60 CH arom), 101.4 (C-1B ou C-
 1C, $^1J_{CH}=171.7\text{Hz}$ ou $^1J_{CH}=170.9\text{Hz}$), 101 (C-1B ou C-1C et C-
 1D, $^1J_{CH}=171.7\text{Hz}$ ou $^1J_{CH}=170.9\text{Hz}$), 87.1 (C-1A, $^1J_{CH}=169.1\text{Hz}$),
 80, 79.6, 79.4, 79 (4*C-3), 77.3 (C-2A), 75.5 (C-2B ou C-
 20 2C), 75.1 (CH₂Ph), 75.07 (C-2B ou C-2C), 74.94 (CH₂Ph),
 74.85*2, 74.77, 72 (4*C-4), 73.26 (CH₂Ph), 73.18 (CH₂Ph),
 73.1 (CH₂Ph), 72.8 (CH₂Ph), 72.6, 72.26, 72.22, 71.5 (4*C-
 5), 72.3 (CH₂Ph), 72 (CH₂Ph), 71.8 (CH₂Ph), 69.4, 69.2,
 68.9, 68.7 (4*C-6), 68.4 (C-2D).

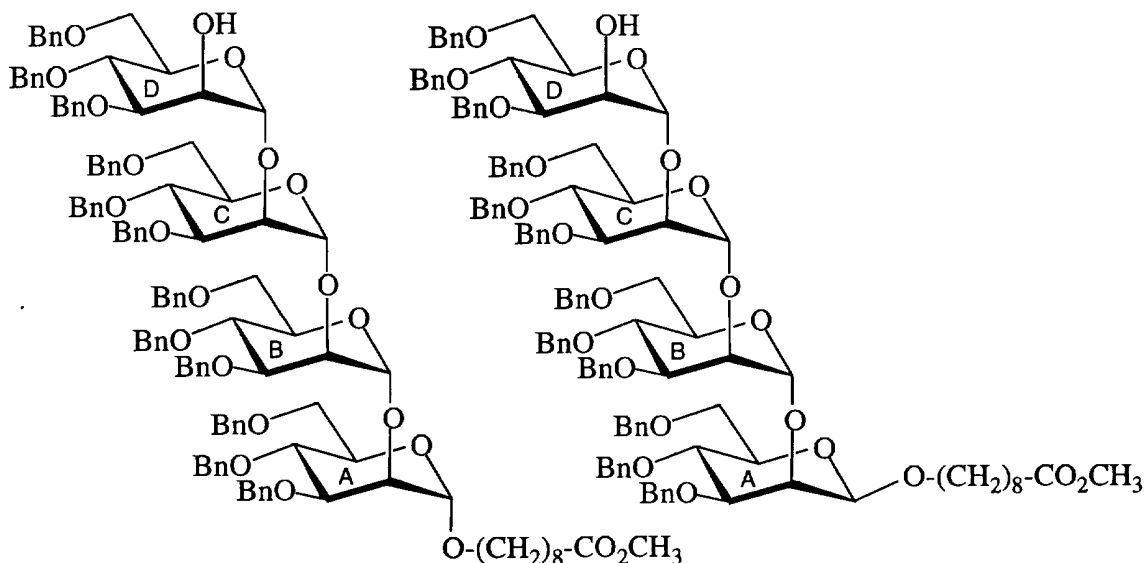
25 Spectre de masse : m/z 1861.9 (M+Na)⁺.

Analyse pour C₁₁₄H₁₁₈O₂₀S (1840.258) calculée
 C:74.4 H:6.463 trouvée C:74.3 H:6.54

30 5) 8-méthoxycarboxyloctyl 2-O-(2-O-(2-O-(3,4,6-
 tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl))-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-
 mannopyranosyl))-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-
 3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranoside (18a)

et

8-méthoxycarbonyloctyl 2-O-(2-O-(2-O-(3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- β -D-mannopyranoside (18b).



5

Pour le protocole expérimental, voir le composé 10.

A partir de 268 mg (146 μ mol) du composé 17, les deux diastéréomères 18a α -O-connecteur (101 mg, 36%) et 18b β -O-connecteur (100 mg, 36%) sont obtenus après une chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane / acétate d'éthyle=4/1) dans un rapport $\alpha/\beta=1/1$.

Caractéristique de 18a α -O-connecteur: $[\alpha]_D +35$ (c 0.2, chloroforme)

$^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 7.36-7.23 (m, 55H, arom.), 5.3 (d, 1H, $J_{1-2}=1.2\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.27 (d, 1H, $J_{1-2}=1.6\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.18 (d, 1H, $J_{1-2}=1.4\text{Hz}$, H-1D), 4.99 (d, 1H, $J_{1-2}=1.4\text{Hz}$, H-1A), 4.89 (2d, 2H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, 2 CHPh), 4.86 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.82 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.5\text{Hz}$, CHPh), 4.72 (2d, 2H, 2 CHPh), 4.67 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.63-4.58 (m, 8H, 8 CHPh), 4.56 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.55 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.54 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.49

20

(d, 1H, $J_{gem}=10.5\text{Hz}$, CHPh), 4.48 (d, 1H, $J_{gem}=11.5\text{Hz}$, CHPh), 4.47 (d, 1H, $J_{gem}=11.2\text{Hz}$, CHPh), 4.4 (d, 1H, $J_{gem}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.35 (d, 1H, $J_{gem}=11.5\text{Hz}$, CHPh), 4.21 (d, 1H, $J_{gem}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.2-4.19 (m, 1H, H-2D), 4.185 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.6\text{Hz}$ et $J_{2-3}=2.5\text{Hz}$, H-2B ou H-2C), 4.15 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.2\text{Hz}$ et $J_{2-3}=2.1\text{Hz}$, H-2B ou H-2C), 4.03 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.4\text{Hz}$ et $J_{2-3}=2.5\text{Hz}$, H-2A), 4.01-3.89 (m, 9H, 4*H-3, 3*H-5A, B, C ou D, 2*H-4A, B, C ou D), 3.84-3.72 (m, 5H, 2*H-4A, B, C ou D, 1*H-5A, B, C ou D, 2*H-6A, B, C ou D), 3.71 (s, 3H, -C:O-OCH₃), 3.67-3.51 (m, 2H, 2*H-6A, B, C ou D), 3.60 (dt, 1H, $J_{CH-CH_2}=6.8\text{Hz}$ et $J_{gem}=9.5\text{Hz}$, -O-CH-CH₂-), 3.28 (dt, 1H, $J_{CH-CH_2}=6.6\text{Hz}$ et $J_{gem}=9.5\text{Hz}$, -O-CH-CH₂-), 2.44 (br, 1H, OH), 2.34 (t, 2H, $J_{3-2}=7.6\text{Hz}$, -CH₂C:O-OCH₃), 1.69-1.62 (m, 2H, -CH₂-), 1.55-1.48 (m, 2H, -CH₂-), 1.37-1.27 (m, 8H, -(CH₂)₄-).

¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 174.2 (-C:O-OCH₃), 138.6, 138.55, 138.5*4, 138.44, 138.36*2, 138.3, 138.1, 138 (12 C arom.), 128.4-127.26 (55 CH arom), 101.1 (C-1B ou C-1C, $^1J_{CH}=171.7\text{Hz}$ ou $^1J_{CH}=172.9\text{Hz}$), 100.9 (C-1B ou C-1C et C-1D, $^1J_{CH}=171.7\text{Hz}$ ou $^1J_{CH}=172.9\text{Hz}$), 98.7 (C-1A, $^1J_{CH}=168.5\text{Hz}$), 80, 79.4*2, 79.1 (4*C-3), 75.8 (C-2A), 75.6 (C-2B ou C-2C), 75.13 (C-2B ou C-2C), 75.1 (2*CH₂Ph), 74.96 (CH₂Ph), 73.9*2, 74.8, 74.3 (4*C-4), 73.3 (CH₂Ph), 73.2 (CH₂Ph), 73.18 (2*CH₂Ph), 72.33 (2*CH₂Ph), 72.3, 72, 71.76, 71.73 (4*C-5), 72 (CH₂Ph), 71.76 (CH₂Ph), 71.73 (CH₂Ph), 69.6, 69.5, 63.35, 68.8 (4*C-6), 68.5 (C-2D), 67.65 (-O-CH₂-), 69.8 (CH₂Ph), 51.4 (-C:O-OCH₃), 34 (-CH₂-C:O-O-CH₃), 29.4, 29.2, 29.1, 29, 26, 24.9 (-CH₂-)

Spectre de masse : m/z 1934.8 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₁₁₈H₁₃₂O₂₃ (1918.35) : calculée
C:73.88 H:6.93 trouvée C:73.76 H:7.12

Caractéristique de 18b β -O-connecteur $[\alpha]_D +2$
(c 0.2, chloroforme)

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) : δ 7.38-7.25 (m, 55H, arom.), 5.39 (d, 1H, $J_{1-2}=1.5\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.34
5 (d, 1H, $J_{1-2}=1.5\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.23 (d, 1H, $J_{1-2}=1.45\text{Hz}$, H-1D), 4.9 (d, H, $J_{\text{gem}}=10.6\text{Hz}$, CHPh), 4.89 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.87 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.6\text{Hz}$, CHPh), 4.82 (d, H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.81 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.1\text{Hz}$, CHPh), 4.79 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.5\text{Hz}$, CHPh), 4.69 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.68-4.55 (m, 11H, 11 CHPh), 4.54 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.7\text{Hz}$, CHPh), 4.52 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.6\text{Hz}$, CHPh), 4.51 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.5\text{Hz}$, CHPh), 4.48 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.1\text{Hz}$, CHPh), 4.41-4.38 (m, 1H, H-5B ou H-5C), 4.38
10 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.3 (s, 1H, H-1A), 4.27 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.4\text{Hz}$, CHPh), 4.25-4.24 (m, 2H, H-2B et H-2C), 4.2-4.19 (m, 1H, H-2D), 4.13 (d, 1H, $J_{2-3}=2.3\text{Hz}$, H-2A), 4.09 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.8\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.6\text{Hz}$, H-3B ou H-3C), 4.05 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.8\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.1\text{Hz}$, H-3B ou H-3C), 4.047-3.88 (m, 7H, H-3D, 3*H-4B, B ou D, 3*H-5B, C ou D), 3.92-3.89 (m, 1H, -O-CH-CH₂-), 3.8-3.5 (m, 8H, H-4A, 4*H-6A, B, C et D, -C:O-OCH₃), 3.48 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.5\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.4\text{Hz}$, H-3A), 3.44-3.39 (m, 2H, H-5A et -O-CH-CH₂-), 2.44 (br, 1H, OH), 2.34 (t, 2H, $J_{3-2}=7.6\text{Hz}$, -CH₂C:O-OCH₃), 1.67-1.57 (m, 4H, -(CH₂)₂-), 1.39-1.28 (m, 8H, -(CH₂)₄-).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 174.2 (-C:O-OCH₃), 138.9, 138.77, 138.66, 138.65, 138.56*2, 138.37, 138.35, 138.12*2, 138.07, 137.9 (12 C arom.), 128.4-127.2 (55 CH arom), 100.8 (C-1D), 100.5 (C-1B ou C-1C), 99.9 (C-1A), 99.5 (C-1B ou C-1C), 82.3 (C-3A), 80(C-3D), 79.7 (C-3B ou C-3C), 79.5 (C-3B ou C-3C), 75.6 (C-5A), 75.3 (C-2B ou C-2C), 75.02 (CH₂Ph), 75*2 (CH₂Ph), 74.93 (C-4A), 74.9 (C-2B ou C-2C), 74.88, 74.84, 74.2 (C-4B, C-4C, C-4D), 73.35
25
30

(CH₂Ph), 73.23 (CH₂Ph), 73.21 (CH₂Ph), 73.17 (CH₂Ph), 73.12 (CH₂Ph), 72.5 (C-2A), 72.34 (CH₂Ph), 72.2, 71.6, 71.5 (C-5B, C-5C, C-5D), 72.1 (CH₂Ph), 72 (CH₂Ph), 71.8 (CH₂Ph), 69.7, 69.4, 63.37, 69.2 (4*C-6), 68.48 (-O-CH₂-), 68.46 (C-2D), 51.4 (-C:O-OCH₃), 34 (-CH₂-C:O-O-CH₃), 29.6, 29.2, 29.16, 29.1, 26, 24.9 (-CH₂-)

Spectre de masse : m/z 1934.95 (M+NH₄)⁺.

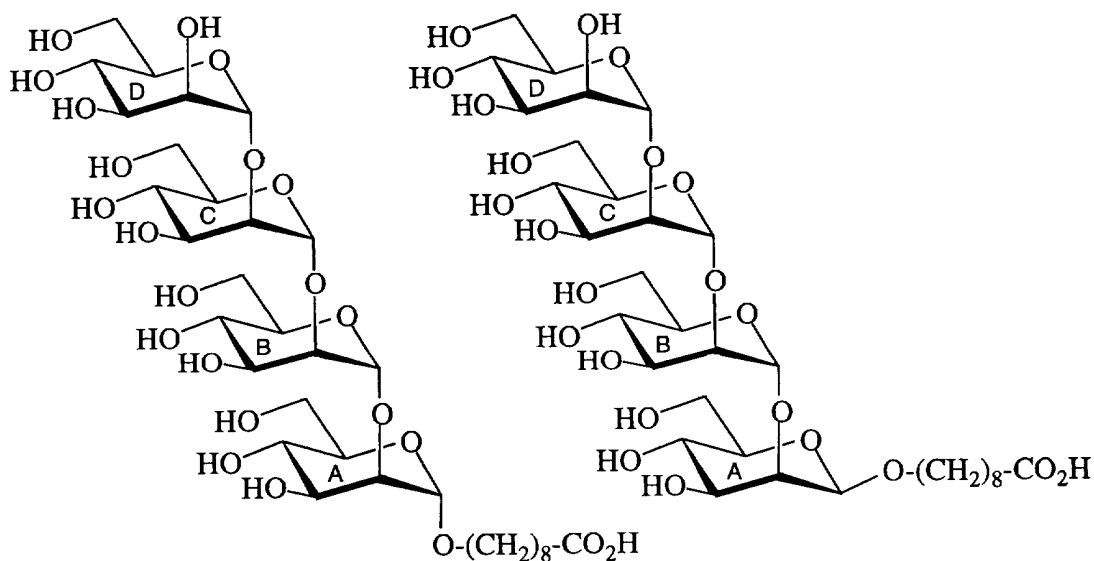
Analyse pour C₁₁₈H₁₃₂O₂₃ (1918.35) : calculée C:73.88 H:6.93 trouvée C:73.84 H:7.1

10

6) 8-carboxyloctyl 2-O-(2-O-(2-O-(α-D-mannopyranosyl)-α-D-mannopyranosyl)-α-D-mannopyranosyl)-α-D-mannopyranoside et β-D-mannopyranoside (II, R=connecteur).

15

A partir des deux isomères 18a et 18b, deux composés (II R= connecteur) ont été préparés:



- Composé α-aglycone

Etape 1 : saponification

20

Pour le protocole expérimental, voir l'étape 2 de I (R=connecteur).

18a (90 mg, 47 μmol) , donne 70 mg (78%) de 8-carboxyloctyl 2-O-(2-O-(2-O-(3,4,6-tri-O-benzyl-α-D-

mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-
 3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl-
 α -D-mannopyranoside après une chromatographie sur gel de
 silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=2/1): $[\alpha]_D +17$
 5 (c 1, chloroforme)

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) : δ 7.36-7.23 (m, 55H,
 arom.), 5.3 (d, 1H, $J_{1-2}=1.2\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.27 (d,
 1H, $J_{1-2}=1.6\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.18 (d, 1H, $J_{1-2}=1.4\text{Hz}$,
 H-1D), 4.99 (d, 1H, $J_{1-2}=1.4\text{Hz}$, H-1A), Absence du pic
 10 caractéristique du méthyle de l'ester méthylique.

Spectre de masse : m/z 1920.86 ($\text{M}+\text{NH}_4^+$)⁺.

Analyse pour $\text{C}_{117}\text{H}_{130}\text{O}_{23}$ (1904.32) : calculée
 C:73.79 H:6.88 trouvée C:73.36 H:7.12

Etape 2 : hydrogénolyse

15 Pour le protocole, voir étape 3 de I
 (R=connecteur).

A partir de 48 mg (25 μmol) du précurseur, 20
 mg (Rdt=95%) sont obtenus pour le composé α -O-connecteur II
 (R= connecteur).

20 ^1H -R.M.N. (400MHz, D_2O) du composé α -O-
 connecteur: δ 5.25 (d, 1H, $J_{1-2}=1.6\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.24
 (d, 1H, $J_{1-2}=1.5\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.04 (d, 1H, J_{1-2}
 $=1.3\text{Hz}$, H-1D), 4.99 (d, 1H, $J_{1-2}=2\text{Hz}$, H-1A), 3.69-3.63
 (m, 1H, -O-CH-CH₂-), 3.48 (dt, 1H, $J_{\text{CH-CH}_2}=6.2\text{Hz}$ et J
 25 $\text{gem}=9.9\text{Hz}$, -O-CH-CH₂-), 2.22 (t, 2H, $J_{3-2}=7.5\text{Hz}$, -
 CH₂COOH), 1.58-1.48 (m, 4H, -(CH₂)₂-), 1.3-1.24 (m, 8H, -
 (CH₂)₄-).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 102.5, 100.96, 100.91,
 98.29 (4 C-1).

30 Spectre de masse (FAB) : calculée $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_{23}\text{Na}$:
 m/z 845.32 obtenue : 845.37

- Composé β - aglycone

Etape 1 : saponification

Pour le protocole expérimental, voir l'étape 2 de I (R=connecteur).

5 18b (89 mg , 46.4 μmol) donne 64 mg (72%) de 8-carboxyloctyl 2-O-(2-O-(2-O-(3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- β -D-mannopyranoside : $[\alpha]_D +19$ (c 1, chloroforme)

10 $^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 7.38-7.25 (m, 55H, arom.), 5.39 (d, 1H, $J_{1-2}=1.5\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.34 (d, 1H, $J_{1-2}=1.5\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.23 (d, 1H, $J_{1-2}=1.45\text{Hz}$, H-1D), 4.3 (s, 1H, H-1A), Absence du pic caractéristique du méthyle de l'ester méthylique.

Spectre de masse : m/z 1920.9 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺.

15 Analyse pour $\text{C}_{117}\text{H}_{130}\text{O}_{23}$ (1904.32) : calculée C:73.79 H:6.88 trouvée C:73.37 H:7.28

Etape 2 : hydrogénolyse

Pour le protocole, voir étape 3 de I (R=connecteur).

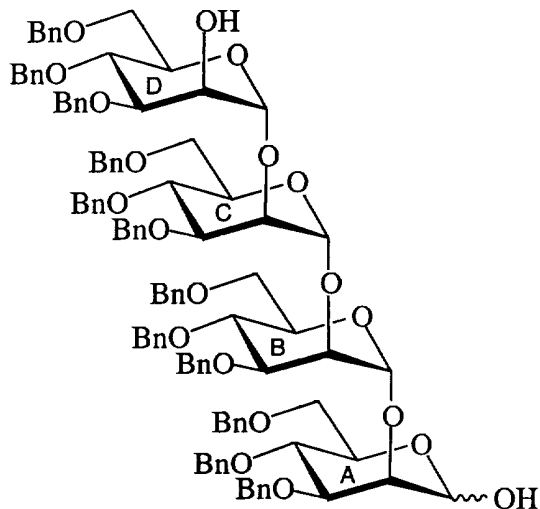
20 18 mg (92%) II (R= connecteur) β -O-connecteur sont obtenu à partir de 45 mg (23.6 μmol):

25 $^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, D_2O) du composé β -O-connecteur: δ 5.33 (d, 1H, $J_{1-2}=1.3\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 5.24 (d, 1H, $J_{1-2}=1.8\text{Hz}$, H-1B ou H-1C), 4.98 (d, 1H, $J_{1-2}=1.9\text{Hz}$, H-1D), 4.63 (s, 1H, H-1A), 3.84-3.79 (m, 1H, -O-CH-CH₂-), 3.53 (dt, 1H, $J_{\text{CH-CH}_2}=5.8\text{Hz}$ et $J_{\text{gem}}=9.9\text{Hz}$, -O-CH-CH₂-), 2.22 (t, 2H, $J_{3-2}=7.5\text{Hz}$, -CH₂COOH), 1.59-1.49 (m, 4H, -(CH₂)₂-), 1.3-1.24 (m, 8H, -(CH₂)₄-).

30 $^{13}\text{C R.M.N.}$ (100 MHz) : δ 102.5, 100.95, 100.91, 99.99 (4 C-1).

Spectre de masse (FAB) : calculée $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_{23}\text{Na}$: m/z 845.32 obtenue : 845.4

7) 2-O-(2-O-(2-O-(3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranose (19).



5

Pour le protocole expérimental, voir l'étape 2 de I (R=H).

A partir de 105 mg (57 μ mol) du composé 17, 84 mg (85%) du composé 19 ($\alpha/\beta=87/13$) sont obtenus après une chromatographie sur gel de silice avec élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=3/1 puis 2/1.

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) du composé α : δ 7.4-7.27(m, 60H, arom.), 5.38-5.37 (m, 1H, H-1A), 5.34 (d, 1H, J 1-2=1.5Hz, H-1B ou H-1C), 5.32 (d, 1H, J 1-2=1.7Hz, H-1B ou H-1C), 5.23 (d, 1H, J 1-2=1.6Hz, H-1D), 2.83 (br, 1H, OH), 2.51 (br, 1H, OH).

15

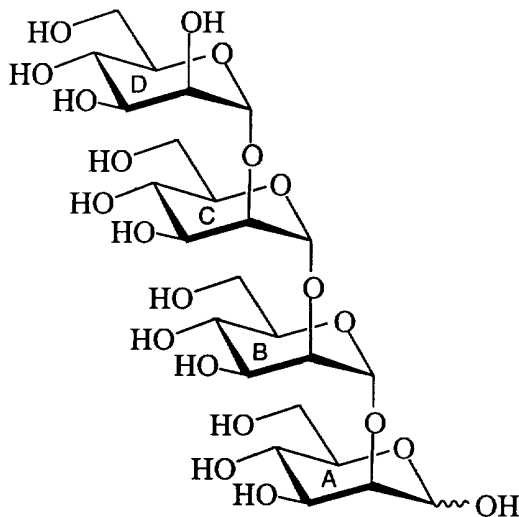
^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 100.94 (C-1D), 100.9 (C-1B ou C-1C), 100.85 (C-1B ou C-1C), 93.3 (C-1A).

Spectre de masse : m/z 1769.54 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

20

Analyse pour $\text{C}_{117}\text{H}_{130}\text{O}_{23}$ (1748.1) : calculée C:74.2 H:6.57 trouvée C:74.15 H:6.7

8) 2-O-(2-O-(2-O-(α -D-mannopyranosyl)- α -D-mannopyranosyl)- α -D-mannopyranosyl)-D-mannopyranose II (R=H).



Pour le protocole expérimental, voir l'étape 3 du composé I (R=connecteur).

30 mg (18 μ mol) du composé précédent donnent 18 mg (Rdt=95%) du composé II (R=H) après lyophilisation.

^1H -R.M.N. (400MHz, D_2O) du composé α -OH: δ 5.23(s, 1H, H-1A), 5.15 (se, 2H, H-1B et H-1C), 4.91 (d, 1H, $J_{1-2}=1.6\text{Hz}$, H-1D).

Spectre de masse : calculée $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_{21}\text{Na}$: m/z 689.21 obtenue 689.41

Exemple 3 : Préparation de D-Man α (1-3) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2), de formule (III).

I - Schéma réactionnel.

La figure 3 en annexe représente le schéma réactionnel de la préparation de D-Man α (1-3) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) de formule (III). Celui-ci est préparé par condensation d'un bloc α (1-3) avec un groupe partant SPh et un bloc α (1-2) dont l'un avec connecteur conformément aux réactions (a'') à (d'') ci-dessous.

La réaction (a'') est réalisée dans les conditions suivantes : TfOTMS, tamis moléculaire 4 Angstrom, CH_2Cl_2 , -20°C .

La réaction (b'') est réalisée dans les conditions suivantes : MeONa, MeOH.

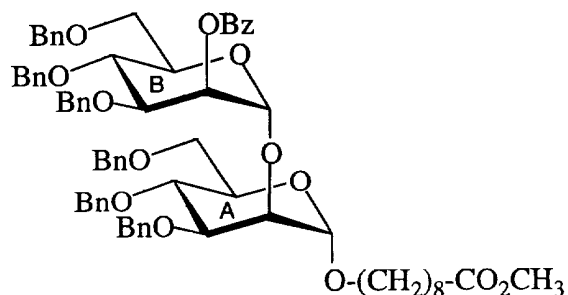
La réaction (c'') est réalisée dans les conditions suivantes : NIS, TfOH, , tamis moléculaire 4 Angstrom, CH₂Cl₂, -20°C.

La réaction (d'') est réalisée dans les conditions suivantes : 1-NaOH, THF, eau, 2-H₂, Pd/C, MeOH, AcOEt.

II - Protocole expérimental.

Les composés 22 (Y-M. Zhang, J.-M. Mallet, P. Sinaÿ. *Carbohydr. Res.* 236, (1992), 73-88.) et 21 (P. J. Garegg, H. Hultberg, T Norberg, *Carbohydr. Res.* 96 (1981) 59-64) sont préparés selon les protocoles de la littérature.

1) 8-méthoxycarbonyloctyl 2-O-(2-O-benzoyl-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranoside (23).



430 mg (665 μ mol, 1 eq) de phényl 2-O-benzoyl-3,4,6-tri-O-benzyl-1-thio- α -D-mannopyranoside (22) (Y-M. Zhang, J.-M. Mallet, P. Sinaÿ. *Carbohydr. Res.* 236, (1992), 73-88.) , 412 mg (1 eq) de 8-méthoxycarbonyl 3,4,6-tri-O-benzyl-1- α -D-mannopyranoside (21) (P. J. Garegg, H. Hultberg, T Norberg, *Carbohydr. Res.* 96 (1981) 59-64) et 1 g de tamis moléculaire sont mis en suspension dans 9 mL de dichlorométhane anhydre et sous atmosphère d'argon. Après 30 mn d'agitation à température ambiante, la solution est

refroidie à -20°C . 306 mg (2.2 éq) de N-iodosuccinimide et 11.7 μL (0.2 éq) d'acide trifluorométhanesulfonique sont alors successivement ajoutés. Après 30 mn à -20°C , le milieu réactionnel est neutralisé par une solution

5 d'hydrogénocarbonate de sodium. Le tout est filtré sur un lit de célite, la phase organique est lavée par une solution de thiosulfate de sodium et par une solution aqueuse de NaCl. Celle-ci est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. Une

10 chromatographie du brut (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=4/1) fournit 615 mg (80%) du produit 23 sous la forme d'une huile incolore. $[\alpha]_{\text{D}} +5.2$ (c 0.56, chloroforme)

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) : δ 8.15-7.25m(35H, arom.), 5.85 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.8\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2B),

15 5.27 (d, 1H, $J_{1-2}=1.8\text{Hz}$, H-1B), 4.96 (d, 1H, $J_{1-2}=1.66\text{Hz}$, H-1A), 4.93 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.7\text{Hz}$, CHPh), 4.92 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.83 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.1\text{Hz}$, CHPh), 4.78 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.76 (s, 2H, CH_2Ph), 4.74 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.62 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.2\text{Hz}$, CHPh),

20 4.62 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.7\text{Hz}$, CHPh), 4.58 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.57 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.51 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.1\text{Hz}$, CHPh), 4.19 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.3\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9\text{Hz}$, H-3B), 4.12-4.09 (m, 2H, H-5B et H-4B), 4.07 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.66\text{Hz}$ et $J_{2-3}=2.9\text{Hz}$, H-2A), 4 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.9\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.2\text{Hz}$, H-3A), 3.94 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.5\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=3\text{Hz}$, H-6Bb), 3.92 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.2\text{Hz}$, H-4A), 3.85-3.77 (m, 4H, H-6A, H-6Ba et H-5A), 3.71 (s, 3H, $-\text{C}:\text{O}-\text{OCH}_3$), 3.67 (dt, 1H, $J_{\text{gem}}=9.5\text{Hz}$ et $J_{\text{CH}-\text{CH}_2}=6.7\text{Hz}$, $-\text{O}-\text{CH}-\text{CH}_2-$), 3.35 (dt, 1H, $J_{\text{gem}}=9.5\text{Hz}$ et $J_{\text{CH}-\text{CH}_2}=6.7\text{Hz}$, $-\text{O}-\text{CH}-\text{CH}_2-$),

25 2.36 (t, 2H, $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_2}=7.5\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{CH}_3$), 1.69-1.65, 1.57-1.54 et 1.35-1.33 (m, 12H, $-\text{CH}_2-$).

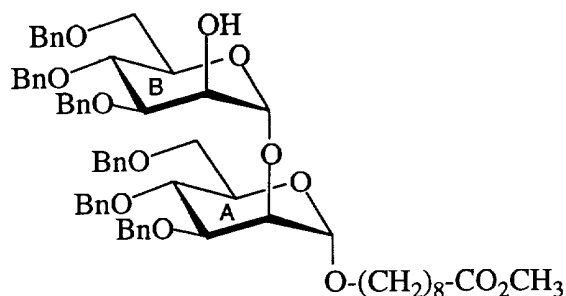
^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 174.2 ($-\text{C}:\text{O}-\text{OCH}_3$), 165.4 ($-\text{O}-\text{C}:\text{O}$), 138.5, 138.4, 138.32, 138.3, 138.26,

137.98, 129.9 (7 C arom.), 133-127.35 (35 CH arom), 99.5 (C-1B), 98.6 (C-1A), 79.73 (C-3A), 78.07 (C-3B), 75.2 (C-2A), 75.1 (CH₂Ph), 75 (CH₂Ph), 74.6 (C-4B), 74.3 (C-4A), 73.3 (CH₂Ph), 73.2 (CH₂Ph), 72.1 (CH₂Ph), 71.9 (C-5B), 71.7 (C-5A), 71.6 (CH₂Ph), 69.2 (C-6A), 69.15 (C-6B), 68.98 (C-2B), 67.64 (-O-CH₂-), 51.4 (-C:O-OCH₃), 34 (-CH₂-COOCH₃), 29.36, 29.17, 29.11, 29, 26, 24.9 (-CH₂-).

Spectre de masse : m/z 1174.5 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₇₁H₈₀O₁₄ (1157.40) : calculée
C:73.68 H:6.96 trouvée C:73.61 H:7.11

2) 8-méthoxycarbonyloctyl 2-O-(3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranoside (24).



540 mg (467 μ mol) du composé 23 sont dissous dans 5 mL d'un mélange de solvant méthanol/dichlorométhane=1/1. Du sodium (cat.) est alors ajouté au mélange. Après 1 heure à température ambiante, la solution est neutralisée par de la résine amberlite IR 120 (H⁺). Le tout est filtré et concentré sous vide. Une chromatographie du brut (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=2.75/1) fournit 442 mg (Rdt=90%) du produit 24 sous la forme d'une huile incolore. $[\alpha]_D +34$ (c 0.71, chloroforme)

¹H-R.M.N. (400MHz, CDCl₃) : δ 7.4-7.3m (30H, arom.), 5.21 (d, 1H, $J_{1-2}=1.45$ Hz, H-1B), 4.95 (d, 1H, $J_{1-2}=1.75$ Hz, H-1A), 4.89 (d, 1H, $J_{gem}=10.6$ Hz, CHPh), 4.87 (d,

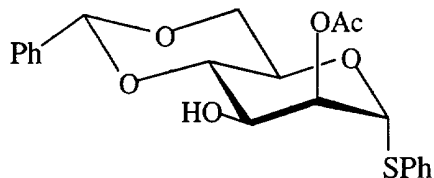
1H, $J_{gem}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.75 (d, 1H, $J_{gem}=12.2\text{Hz}$, CHPh),
 4.75 (d, 1H, $J_{gem}=11.6\text{Hz}$, CHPh), 4.71 (d, 1H, $J_{gem}=11.6\text{Hz}$, CHPh), 4.69 (d, 1H, $J_{gem}=12.1\text{Hz}$, CHPh), 4.64
 (d, 1H, $J_{gem}=11.4\text{Hz}$, CHPh), 4.59 (d, 1H, $J_{gem}=10.6\text{Hz}$,
 5 CHPh), 4.59 (d, 1H, $J_{gem}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.58 (d, 1H, $J_{gem}=11.4\text{Hz}$, CHPh), 4.56 (d, 1H, $J_{gem}=12.1\text{Hz}$, CHPh), 4.54
 (d, 1H, $J_{gem}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.2-4.17 (m, 1H, H-2B), 4.08
 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.75\text{Hz}$ et $J_{2-3}=2.9\text{Hz}$, H-2A), 4.03-3.99 (m,
 1H, H-5B), 3.99 (dd, 1H, $J_{3-2}=2.9\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.3\text{Hz}$, H-3A),
 10 3.93 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.2\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.1\text{Hz}$, H-3B), 3.89 (t,
 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.3\text{Hz}$, H-4A), 3.86 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.1\text{Hz}$, H-4B), 3.86 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=11.1\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.95\text{Hz}$, H-6Ab), 3.82-3.75 (m, 4H, H-6Aa, H-6B et H-5A),
 3.71 (s, 3H, -C:O-OCH₃), 3.65 (dt, 1H, $J_{gem}=9.5\text{Hz}$ et $J_{CH-CH_2}=6.8\text{Hz}$, -O-CH-CH₂-), 3.3 (dt, 1H, $J_{gem}=9.5\text{Hz}$ et $J_{CH-CH_2}=6.8\text{Hz}$, -O-CH-CH₂-), 2.51 (d, 1H, $J_{OH-2}=1.9\text{Hz}$, OH),
 15 2.34 (t, 2H, $J_{CH_2-CH_2}=7.6\text{Hz}$, -CH₂-CO₂CH₃), 1.7-1.63, 1.56-
 1.49 et 1.37-1.27 (m, 12H, -CH₂-).

¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 174.3 (-C:O-OCH₃),
 20 138.5, 138.35, 138.3, 138.25, 138.1, 137.9 (6 C arom.),
 128.4-127.3 (30 CH arom), 101 (C-1B), 98.7 (C-1A), 79.92
 (C-3B), 79.79 (C-3A), 75.1 (CH₂Ph), 74.95 (CH₂Ph), 74.93
 (C-2A), 74.76 (C-4A), 74.3 (C-4B), 73.3 (CH₂Ph), 73.2
 (CH₂Ph), 72.8 (CH₂Ph), 72 (CH₂Ph), 71.7 (C-5B), 71.7 (C-
 25 5A), 69.2 (C-6A), 69 (C-6B), 68.45 (C-2B), 67.63 (-O-CH₂-),
 51.4 (-C:O-OCH₃), 34 (-CH₂-COOCH₃), 29.4, 29.2, 29.1, 29,
 26, 24.9 (-CH₂-).

Spectre de masse : m/z 1070.5 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₆₄H₇₆O₁₃ (1053.30) : calculée
 30 C:72.98 H:7.27 trouvée C:72.89 H:7.43

3) Phényl 2-O-acétyl-4,6-O-benzylidène-1-thio- α -D-mannopyranoside (25).



2 g (5.5 mmol, 1 éq) de phényl 4,6-O-benzylidène-1-thio- α -D-mannopyranoside 1 et 292 mg (1.2 mmol, 0.2 éq) d'acide 10-DL-camphorsulphonique sont dissous dans 10 mL de triéthyl orthoacétate. Après 30 mn à température ambiante, 14.4 mL d'acide acétique 80% sont ajoutés à la solution préalablement refroidie à 0°C. Après 1 heure en laissant remonter la température à l'ambiante, le tout est concentré et chromatographié sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=2/1). 1.67 g (75%) du composé **25** sont obtenus, après évaporation des solvants, sous forme d'une poudre blanche. pf : 157-158°C; $[\alpha]_D +169$ (c 1.05, chloroforme)

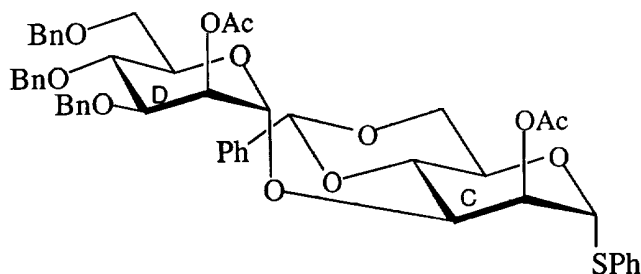
$^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 7.56-7.3m(10H, arom.), 5.66 (s, 1H, by), 5.52 (s, 1H, H-1), 5.51 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.3\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2), 4.41 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.7\text{Hz}$, $J_{5-6a}=10.3\text{Hz}$ et $J_{5-6b}=4.9\text{Hz}$, H-5), 4.29 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.3\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.9\text{Hz}$, H-6b), 4.28-4.25 (m, 1H, H-3), 4.04 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.7\text{Hz}$, H-4), 3.89 (t, 1H, $J_{6b-6a}=J_{6b-5}=10.3\text{Hz}$, H-6a), 2.65 (d, 1H, $J_{\text{OH}-3}=3.5\text{Hz}$, OH), 2.21 (s, 3H, O-C:O- CH_3).

$^{13}\text{C R.M.N.}$ (100 MHz) : δ 170.3 (-O-C:O- CH_3), 136.9, 133 (2 C arom.), 132-126.2 (10 CH arom.), 102.2 (by), 86.8 (C-1), 79 (C-4), 73.5 (C-2), 68.3 (C-6), 67.7 (C-3), 64.5 (C-5A), 20.9 (-O-C:O- CH_3).

Spectre de masse : m/z 403.2 (M+H)⁺.

Analyse pour $C_{21}H_{22}O_6S$ (402.46) : calculée
C:62.67 H:5.509 trouvée C:62.66 H:5.54

5 4) Phényl 3-O-(2-O-acétyl-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-2-O-acétyl-4,6-O-benzylidène-1-thio- α -D-mannopyranoside (26).



731 mg (1.15 mmol, 1.1 éq) de O-(2-O-acétyl-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranose) trichloroacétimidate (12), 420 mg (1.044 mmol, 1 éq) du composé 25 et 1.3 g de tamis moléculaire sont mis en suspension dans 12 mL de dichlorométhane anhydre et sont maintenus sous atmosphère d'argon. Après 30 mn d'agitation à température ambiante, la solution est refroidie à $-20^{\circ}C$ et 22 μ L (0.1 éq) de trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle sont injectés. Après 1 heure d'agitation, l'ensemble est neutralisé par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium, filtré sur célite. la phase organique séparée est lavée par une solution aqueuse de NaCl, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous vide. Le brut est chromatographié sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=4/1) et 626 mg (Rdt=68%) du composé 26 sont ainsi isolés sous la forme d'une mousse blanche. pf : $58-59^{\circ}C$; $[\alpha]_D +119$ (c 0.55, chloroforme)

1H -R.M.N. (400MHz, $CDCl_3$) : δ 7.47-7.25m(25H, arom.), 5.69 (s, 1H, by), 5.55 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.8Hz$ et $J_{2-3}=2.7Hz$, H-2D), 5.52 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.3Hz$ et $J_{2-3}=3.4Hz$, H-2C), 5.49 (d, 1H, $J_{1-2}=1.3Hz$, H-1C), 5.34 (d, 1H, J_{1-2}

2=1.8Hz, H-1D), 4.89 (d, 1H, $J_{gem}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.77 (d, 1H, $J_{gem}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.74 (d, 1H, $J_{gem}=11.4\text{Hz}$, CHPh), 4.56 (d, 1H, $J_{gem}=12.2\text{Hz}$, CHPh), 4.56 (d, 1H, $J_{gem}=11.4\text{Hz}$, CHPh), 4.54 (d, 1H, $J_{gem}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.42 (ddd, 1H, $J_{5-4}=9.8\text{Hz}$, $J_{5-6b}=4.9\text{Hz}$ et $J_{5-6a}=10.3\text{Hz}$, H-5C), 4.4 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.4\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.8\text{Hz}$, H-3C), 4.3 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.3\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.9\text{Hz}$, H-6Cb), 4.2 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.8\text{Hz}$, H-4C), 3.97-3.87 (m, 4H, H-5D, H-4D, H-3D et H-6Ca), 3.86 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=12\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=3.9\text{Hz}$, H-6Db), 3.78 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=12\text{Hz}$ et $J_{6a-5}=3.3\text{Hz}$, H-6Da), 2.21 et 2.16 (2s, 6H, 2 O-C:O-CH₃).

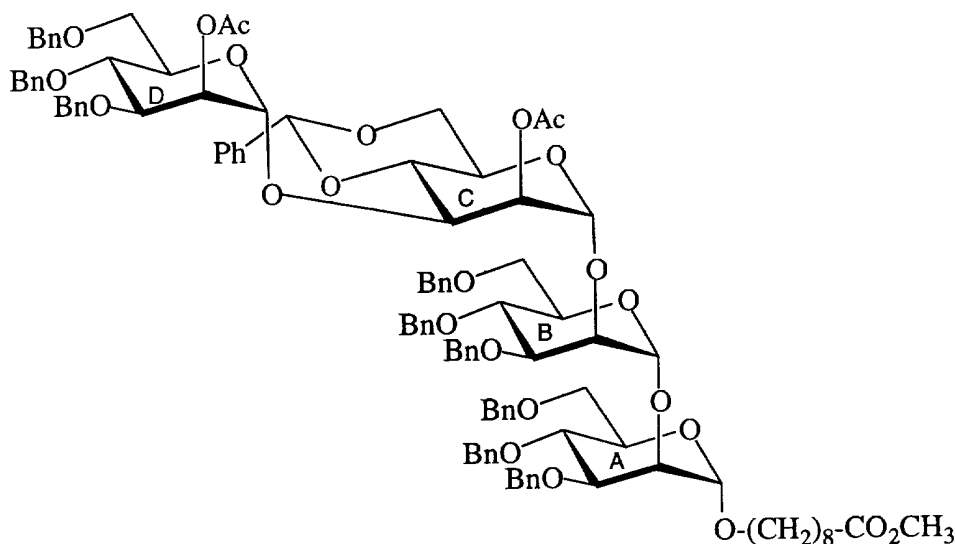
¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 170.1 et 169.7 (2 -O-C:O-CH₃), 138.4, 138.2, 137.9, 136.9, 133

(C arom.), 132-125.9 (25 CH arom.), 101.3 (by), 98.8 (C-1D), 86.8 (C-1C), 78.9 (C-4C), 75.6, 74.1 et 72.1 (C-3D, C-4D et C-5D), 74.9 (CH₂Ph), 73.4 (CH₂Ph), 73.1 (C-2C), 71.7 (CH₂Ph), 70.8 (C-3C), 68.6 (C-6D), 68.4 (C-2D), 68.2 (C-6C), 64.6 (C-5C), 21 et 20.8 (2 -O-C:O-CH₃).

Spectre de masse : m/z 894.3 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₅₀H₅₂O₁₂S (877.02) : calculée C:68.47 H:5.976 trouvée C:68.36 H:6.15

5) 8-méthoxycarboxyloctyl 2-O-(2-O-(3-O-(2-O-acétyl-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-2-O-acétyl-4,6-O-benzylidène- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranoside (27).



158 mg (180 μmol , 1 eq) du composé **26**, 186 mg (1 eq) du composé **24** et 500 mg de tamis moléculaire sont mis en solution dans 5 mL de dichlorométhane anhydre et sont maintenus sous atmosphère d'argon. Après 30 mn d'agitation, la solution est refroidie à -20°C et 81 mg (2 eq) de N-iodosuccinimide ainsi que 4 μL (0.3 eq) d'acide trifluorométhanesulfonique sont additionnés au milieu. Après 30 mn d'agitation, le tout est neutralisé par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium et filtré sur un lit de célite. La phase organique est alors lavée par une solution de thiosulfate de sodium, par une solution aqueuse de NaCl, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. Le brut est chromatographié sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=5/1) et 236 mg (Rdt=72%) du produit **27** sont ainsi isolés sous la forme d'une huile incolore. $[\alpha]_{\text{D}} +29$ (c 0.85, chloroforme)

^1H -R.M.N. (400MHz, CDCl_3) : δ 7.38–7.25m(50H, arom.), 5.66 (s, 1H, by), 5.56 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.5\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3\text{Hz}$, H-2D), 5.44 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.3\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.5\text{Hz}$, H-2C), 5.32 (se, 1H, H-1D), 5.2 (se, 1H, H-1B), 5.04 (se, 1H, H-1C), 4.94 (se, 1H, H-1A), 4.88 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.6\text{Hz}$,

CHPh), 4.88 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.7\text{Hz}$, CHPh), 4.87 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.75 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.4\text{Hz}$, CHPh), 4.75 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.2\text{Hz}$, CHPh), 4.72 (s, 2H, CH₂Ph), 4.67 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.67 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh),
 5 4.61 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.4\text{Hz}$, CHPh), 4.6 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.6\text{Hz}$, CHPh), 4.6 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12\text{Hz}$, CHPh), 4.58 (s, 2H, CH₂Ph), 4.57 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=11.2\text{Hz}$, CHPh), 4.53 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.9\text{Hz}$, CHPh), 4.52 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=10.7\text{Hz}$, CHPh), 4.33 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12.3\text{Hz}$, CHPh), 4.43 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.5\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.3\text{Hz}$, H-3C), 4.21 (dd, 1H, $J_{6b-6a}=10.4\text{Hz}$ et $J_{6b-5}=4.5\text{Hz}$, H-6Cb), 4.14-4.12 (m, 1H, H-2B), 4.09 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.3\text{Hz}$, H-4C), 4.07-4.04 (m, 1H, H-5C), 4.03 (t, 1H, $J_{4-3}=J_{4-5}=9.9\text{Hz}$, H-4D), 4.01-4 (m, 1H, H-2A), 3.98-3.96 (m, 1H, H-3B), 3.93 (dd, 1H, $J_{3-2}=3\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.9\text{Hz}$, H-3D), 3.88-3.85 (m, 1H, H-5D), 3.71 (s, 3H, -C:O-OCH₃), 3.62-3.59 (m, 1H, H-6Da), 3.6-3.56 (m, 1H, -O-CH-CH₂-), 3.25 (dt, 1H, $J_{\text{gem}}=9.4\text{Hz}$ et $J_{\text{CH-CH}_2}=6.6\text{Hz}$, -O-CH-CH₂-), 2.34 (t, 2H, $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_2}=7.5\text{Hz}$, -CH₂-CO₂CH₃), 2.14 et 2.13 (2s, 6H, 2 O-C:O-CH₃), 1.7-1.62, 1.54-1.47 et 1.35-1.25 (m, 12H, -CH₂-).
 15
 20

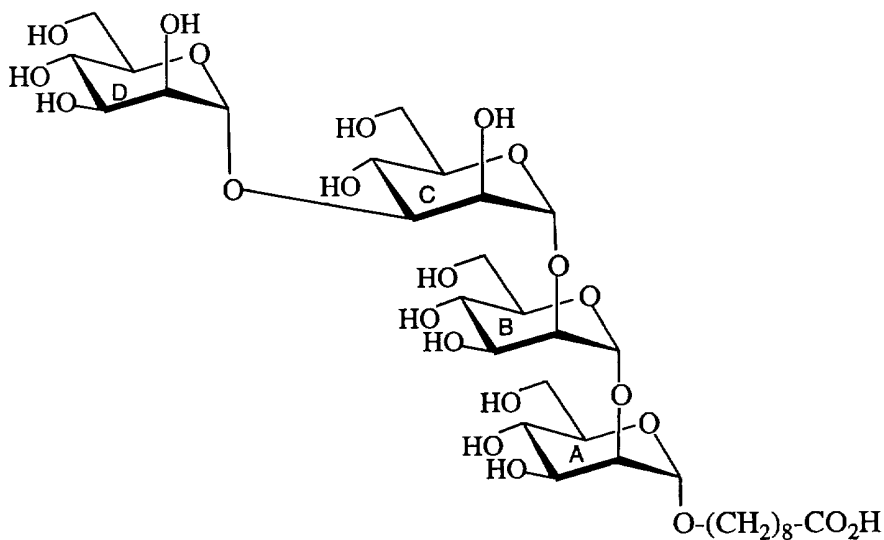
¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 174.3 (-C:O-OCH₃), 170.1 et 169.5 (2 -O-C:O-CH₃), 138.6, 138.55, 138.3*2, 138.29*2, 138.23, 138.2, 137.98, 137 (10 C arom.), 128.7-125.9 (50 CH arom.), 101.2 (by), 100.6 (C-1B, $^1J_{\text{CH}}=171.3\text{Hz}$), 99.8 (C-1C, $^1J_{\text{CH}}=172.2\text{Hz}$), 98.8 (C-1D, $^1J_{\text{CH}}=174\text{Hz}$), 98.6 (C-1A, $^1J_{\text{CH}}=170.5\text{Hz}$), 79.3 (C-3B), 78.9 (C-4C), 77.7 (C-3D), 75.56 (C-2A), 75.4 (C-2B), 75.13 (CH₂Ph), 75.06 (CH₂Ph), 74.87 (CH₂Ph), 73.9 (C-4D), 73.24 (CH₂Ph), 73.22 (CH₂Ph), 73.2 (CH₂Ph), 72.17 (CH₂Ph), 72.09 (CH₂Ph), 72 (C-5D), 71.7 (CH₂Ph), 71.4 (C-2C), 70.8 (C-3C), 68.05 (C-2D), 68.4 (C-6C), 67.63 (-O-CH₂-), 51.4 (-C:O-
 25
 30

OCH₃), 34 (-CH₂-COOCH₃), 29.4, 29.2, 29.1, 29, 26, 24.9 (-CH₂-), 21 et 20.8 (2 -O-C:O-CH₃).

Spectre de masse : m/z 1836.5 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₁₀₈H₁₂₂O₂₅ (1820.026) : calculée
 5 C:71.27 H:6.75 trouvée C:71.08 H:6.94

6) 8-carboxyloctyl 2-O-(2-O-(3-O-(α-D-mannopyranosyl)-α-D-mannopyranosyl)-α-D-mannopyranosyl)-α-D-mannopyranoside III.



10

Etape 1 : saponification

200 mg (110 μmol, 1 éq) du précurseur 27 sont
 dissous dans 10 mL d'un mélange tétrahydrofurane/solution
 d'hydroxyde de sodium (0.1N) (1/1). Après une nuit à
 15 reflux, l'ensemble est acidifié et extrait trois fois par
 du dichlorométhane. La phase organique est alors séchée sur
 sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous vide. Le
 produit brut est chromatographié sur gel de silice
 (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=1.5/1) et 155 mg
 20 (Rdt=82%) du composé sont ainsi isolés sous la forme d'une
 huile incolore.

8-carboxyloctyl 2-O-(2-O-(3-O-(3,4,6-tri-O-
 benzyl-α-D-mannopyranosyl)-4,6-O-benzylidène-α-D-
 mannopyranosyl)-3,4,6-tri-O-benzyl-α-D-mannopyranosyl)-

1=1.3Hz et $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2D), 3.9-3.88 (m, 1H, H-2A), 3.92 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.1\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.6\text{Hz}$, H-3B), 3.91 (dd, 1H, $J_{3-2}=3\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.4\text{Hz}$, H-3C), 3.72-3.65 (m, 1H, -O-CH-CH₂-), 3.49 (dt, 1H, $J_{\text{gem}}=10\text{Hz}$ et $J_{1a-\text{CH}_2}=6.2\text{Hz}$ -O-CH-CH₂-), 2.32 (t, 2H, $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_2}=7.4\text{Hz}$, -CH₂-CO₂H), 1.6-1.5 et 1.33-1.26 (m, 12H, -CH₂-).

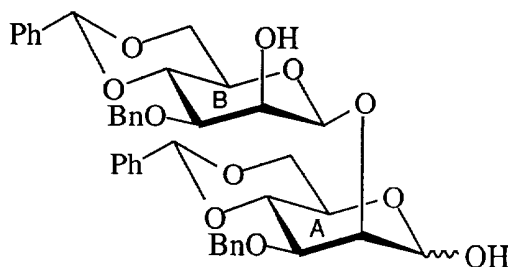
¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 178.3 (-CO₂H), 102.5 (C-1D), 102.49 (C-1C), 100.99 (C-1B), 98.3 (C-1A), 79.3 (C-2A), 78.9 (C-2B), 78.2 (C-3C), 73.66, 73.6*2, 73 (4*C-5), 70.63 (C-3D), 70.61 (C-3A), 70.34 (C-2D), 70.28 (C-3B), 69.9 (C-2C), 68.3 (-O-CH₂-), 67.4, 67.24, 67.2, 66.5 (4*C-4), 61.4*2, 61.3, 61.2 (4*C-6), 34.6 (-CH₂-COOH), 28.7, 28.56, 28.55, 28.48, 25.6, 24.6 (-CH₂-).

Spectre de masse (FAB négatif) : calculée C₃₃H₅₇O₂₃ : m/z 821.32 obtenue 821.32

Exemple 4 : Synthèse des dimannosides VII.

La figure 4 en annexe représente le schéma réactionnel du protocole décrit ci-dessous.

1) 2-O-(3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-β-D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-D-mannopyranoside (28).



Pour le protocole expérimental, voir l'étape 2 du composé 9.

6 (200 mg, 252 μ mol, 1 éq) donne 160 mg (Rdt=90%) du composé 28 ($\alpha/\beta=1/1$) sous forme d'une mousse blanche après une chromatographie sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=1.5/1).

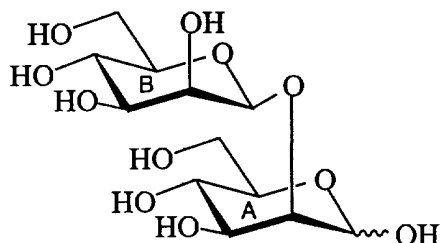
^1H -R.M.N. (250MHz, CDCl_3) du mélange α -OH et β -OH: δ 7.46-7.16 (m, 20H, arom.), 5.49*3 et 5.43 (2s, 4H, 4*by), 5.21 (se, 1H, H-1), 4.89-4.59 (m, 11H, 3*H-1 et 4*CH₂Ph), 4.35-3.55 (m, 20H, 4*H-2, 4*H-3, 4*H-4 et 4*H-6), 3.4-3.21 (m, 4H, 4*H-5).

Spectre de masse : m/z 716 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺.

Analyse pour $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$ (698.77) : calculée C:68.75 H:6.058 trouvée C:68.50 H:6.26

15

1) 2-O-(β -D-mannopyranosyl)-D-mannopyranose (IV, R=H).



20

Pour le protocole expérimental, voir l'étape 3 du composé (I, R=connecteur).

28 (130 mg (35 μ mol) donne 56.7 mg (Rdt=85%) de (IV, R=H) sous la forme d'une poudre amorphe blanche après lyophilisation.

^1H -R.M.N. (400MHz, D_2O) du composé α -OH : δ 5.27 (d, 1H, $J_{1-2}=1.7\text{Hz}$, H-1A), 4.76 (s, 1H, H-1B), 4.11 (dd, 1H, $J_{2-1}=1.7\text{Hz}$ et $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2A), 4.03 (d, 1H, $J_{2-3}=3.1\text{Hz}$, H-2B), 3.84 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.3\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.7\text{Hz}$, H-3A), 3.63 (dd, 1H, $J_{3-2}=3.1\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.5\text{Hz}$, H-3B).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 99.01 (C-1B), 92.25 (C-1A), 78.30 (C-2A), 71.13 (C-2B).

30

^1H -R.M.N. (400MHz, D_2O) du composé β -OH : δ 4.97 (s, 1H, H-1A), 4.81 (s, 1H, H-1A), 4.17 (d, 1H, J_{2-}

3=3Hz, H-2A), 4.16 (d, 1H, $J_{2-3}=3.3\text{Hz}$, H-2B), 3.65-3.61 (m, 2H, H-3A et H-3B).

^{13}C R.M.N. (100 MHz) : δ 101.18 (C-1B), 93.99 (C-1A), 79.68 (C-2A), 70.63 (C-2B).

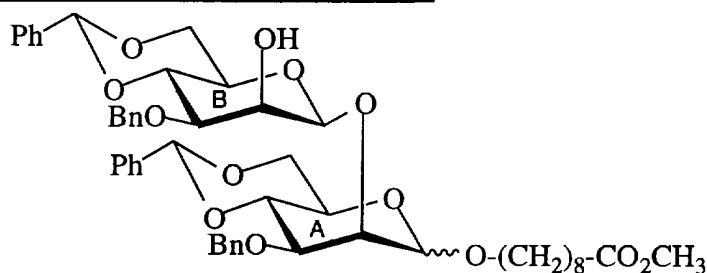
5 Spectre de masse HRMS : (M-OH+NH₃)

calculée: 342.1400 observée: 342.1391

(M +NH₄)⁺ calculée: 360.1506

observée: 360.1517

10 2) 8-méthoxycarboxyloctyl 2-O-(3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène- β -D-mannopyranosyl)-3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-D-mannopyranoside (29).



Pour le protocole expérimental, voir le composé

15 10.

6 (250 mg, 316 μmol) donne 190 mg (Rdt=70%) du composé 29 (mélange $\alpha/\beta=1/1$, non séparables), sous forme d'une huile incolore après chromatographie sur gel de silice (élution:cyclohexane/acétate d'éthyle=1.5/1)

20 ^1H -R.M.N. (250MHz, CDCl₃) : δ 7.45-7.18m(20H, arom.), 5.51*2, 5.49 et 5.43 (2s, 4H, 4*by), 4.86 (s, 1H, H-1), 4.80-4.67 (m, 10H, 2*H-1 et 4*CH₂Ph), 4.41 (s, 1H, H-1), 4.31-3.53 (m, 28H, 4*H-2, 4*H-3, 4*H-4, 4*H-6, 2*-C:O-O-CH₃ et 2*-O-CH₂-), 3.42-3.21 (m, 6H, 4*H-5 et 2*-O-CH₂-), 2.26-2.18 (m, 4H, 2*-CH₂-CO₂CH₃), 1.54-1.18 (m, 24H, -O-CH₂-(CH₂)₆-CH₂-C:O-)

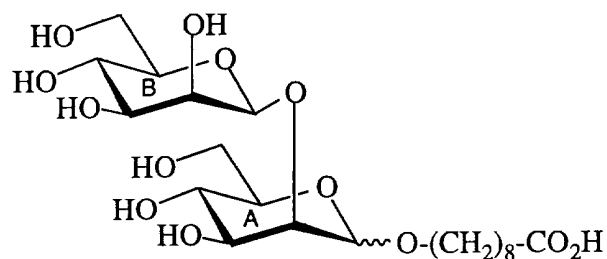
25

Spectre de masse : m/z 886 (M+NH₄)⁺.

Analyse pour C₅₀H₆₀O₁₃ (869.028) : calculée C:69.10 H:6.959 trouvée C:68.55 H:7.41

30

3) 8-carboxyloctyl 2-O-(β -D-mannopyranosyl)-D-mannopyranoside (VII, R=connecteur).



- Etape 1 : Pour le protocole expérimental, voir l'étape 2 du composé (I, R=connecteur).

5 60 mg (69 μ mol) du précurseur 29 fournissent 42 mg (Rdt=72%) après chromatographie sur gel de silice avec élution: cyclohexane/acétate d'éthyl=1/1 sous la forme d'une poudre blanche.

10 $^1\text{H-R.M.N.}$ (250MHz, CDCl_3) : δ 7.45-7.18m(, 20H, arom.), 5.51*2, 5.49 et 5.43 (2s, 4H, 4*by). Absence du pic caractéristique du méthyle de l'ester méthylique.

Spectre de masse HRMS : m/z calculée: 855.3956 observée: 855.3958

15 Analyse pour $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$ (855.0008) : calculée C:68.83 H:6.837 trouvée C:68.64 H:7.10

Etape 2 : Pour le protocole expérimental, voir l'étape 3 du composé (I, R=connecteur).

20 A partir de 30 mg (35 μ mol) de l'intermédiaire précédent, 15 mg (Rdt=92%) de (VII, R=connecteur) sous la forme d'une poudre amorphe sont récupérés après lyophilisation.

25 $^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, D_2O) du composé α -O-connecteur: δ 4.97 (s, 1H, H-1A), 4.75 (s, 1H, H-1B), 4.12 (d, 1H, $J_{2-3}=3\text{Hz}$, H-2A), 4.03 (d, 1H, $J_{2-3}=2.9\text{Hz}$, H-2B), 3.91-3.87 (m, 1H, -O-CH-), 3.81 (dd, 1H, $J_{3-2}=3\text{Hz}$ et $J_{3-4}=9.8\text{Hz}$, H-3A), 3.65-3.61 (m, 1H, -O-CH-), 3.62-3.59 (m, 1H, H-3B), 2.3 (t, 2H, $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_2}=7.4\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$), 1.63-1.56 (m, 4H, $-(\text{CH}_2)_2-$), 1.35-1.29 (m, 8H, $-(\text{CH}_2)_4-$).

30 $^{13}\text{C R.M.N.}$ (100 MHz) : δ 98.94 (C-1B, $^1J_{\text{C-H}}=155\text{Hz}$), 97.83 (C-1A, $^1J_{\text{C-H}}=170\text{Hz}$), 77.58 (C-2A), 71.1 (C-2B).

$^1\text{H-R.M.N.}$ (400MHz, D_2O) du composé β -O-connecteur : δ 4.83 (s, 1H, H-1B), 4.72 (s, 1H, H-1A), 4.24 (d, 1H, $J_{2-3}=2.9\text{Hz}$, H-2A), 4.11 (d, 1H, $J_{2-3}=2.9\text{Hz}$, H-

2B), 3.77-3.72 (m, 1H, -O-CH-), 3.66-3.61 (m, 2H, H-3A et H-3B), 3.57-3.51 (m, 1H, -O-CH-), 2.3 (t, 2H, $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_2}=7.4\text{Hz}$, -CH₂-CO₂H), 1.63-1.56 (m, 4H, -(CH₂)₂-), 1.35-1.29 (m, 8H, -(CH₂)₄-).

5 ¹³C R.M.N. (100 MHz) : δ 101.04 (C-1B, $^1J_{\text{C-H}}=161.8\text{Hz}$), 100.45 (C-1A, $^1J_{\text{C-H}}=157.5\text{Hz}$), 78.4 (C-2A), 70.7 (C-2B).

Spectre de masse HRMS: (M-OH+NH₃) calculée: 498.2551 observée: 498.2531

10 (M +NH₄)⁺ calculée: 516.2656 observée: 516.2671

15 Exemple 5 : Procédures de couplage covalent des oligomannosides de synthèse de l'invention.

Ce couplage présente les avantages suivants :

- surface robuste et adaptée au tests d'immunoanalyse

- meilleure orientation de la biomolécule

20 - densité plus élevée en épitopes

- moins de problème de reconnaissance de l'anticorps : site antigénique accessible

25

Utilisation de la carbodiimide :

30 Cette méthode consiste à activer les groupements acide carboxylique des biomolécules elles-mêmes pour du carbodiimide, qui conduit à un ester activé puis à la formation de liaisons amides avec les groupes amine primaire de la surface (Nunc TechNote Vol. 4 N° 27-28). La carbodiimide hydro-soluble (EDC : 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) est utilisée pour

35 activer les groupements -COOH de la biomolécule en présence du sulfo-N-hydroxy succinimide (sulfo-NHS : N-

hydroxysuccinimide) (Timkovich, R., 1977, Anal. Biochem. 79 : 139-143 ; Staros, J. V., et al., 1986, Anal. Biochem. 156 : 220-222 ; Rasmussen, S. E., 1990, Ann. Biol. Clin. 48 :647-50). Le sulfo-NHS supprime de manière efficace l'hydrolyse du produit activé et permet la fixation du sucre de synthèse à la surface de la plaque déjà sensibilisée par le groupement NH₂.

1) Matériel :

Dissoudre tous les réactifs de couplage dans l'eau distillée. Le reste des réactifs est reconstitué dans l'eau déminéralisée.

- Covalink NH₂ C8 (Cat. Polylabo. N° N70897).
- Sucres de synthèse tetramannose βlié à une chaîne de 8 carbones (bras Lemieux): 200 mg.
- Sulfo-NHS : sulfo-N-hydroxysuccinimide, PIERCE cat. N° 24510.
- EDC : 1-ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)-carbodiimide, Novabiochem, PIERCEN° 01-62-0011.
- PBS 0.15 M Na⁺, pH7.2, Sigma.
- PBS/Tween PBS, 0.05% ; Tween 20, Sigma.
- PBS/Tween/BSA : PBS/Tween, 0.5% BSA
- Lait écrémé.

2) Protocole :

Le tétramannoside de synthèse est utilisé sur deux plaques différentes.

A partir d'une solution mère de sucre à 0,8 mg/ml on réalise 6 dilutions de raison 2 pour obtenir une gamme de concentration de 40 à 1,25 µg/ml dans l'eau distillée.

On prépare de manière extemporanée une solution de :

NHS 3,48 mg/ml

EDC 3,07 mg/ml

On prévoit plusieurs puits pour le blanc et les contrôles (sucres sans réactifs de couplage, un témoin pour le conjugué)

5 Activation et couplage :

- On dépose successivement la solution de sucres à raison de 100 µl par puits :

NHS 50 µl/puits

EDC 50 µl/puits

10 - On couvre les plaques à l'aide d'un film plastique

- On incube les plaques pendant une nuit à température ambiante et sous agitation douce.

Lavages et Saturation :

15 Trois lavages avec de l'eau (300 µl/puits).

Saturation avec 300 µl/puits d'une solution de lait écrémé à 5% dans le tampon PBS.

Incubation 1 heure à température ambiante

20 5 lavages par le PBS-Tween 20 (0,05%) à raison de 300 µl/puits

Détection par methode ELISA :

- Les sucres ainsi couplés peuvent être détectés par l'anticorps monoclonal 5B2 dilué au 250^{ème} dans une solution PBS-Tween-BSA puis déposer 100 µl/puits.

25 - 5 lavages avec une solution PBS-Tween

Révélation :

- Déposer 100 µl/puits de conjugué (exemple : anti-IgM de rat dilué au 500^{ème} pour révéler le 5B2) dans une solution PBS-Tween-BSA puis incuber une heure à température ambiante

30 - 5 Lavages PBS/Tween (300 µl/puits).

- Révélation par l'addition d'un substrat chromogène à base du tetraméthylbenzidine (TMB) :

35 - 200 µl de TMB (Kit de révélation , Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes-La-Coquette)

- Incuber les plaques à température ambiante pendant une demi heure

- Arrêter la réaction par 100 µl/puits par une solution de H₂SO₄ 2N.

5 Lecture :

- Filtre de lecture 450 nm

- Filtre de référence 620 nm

10 Exemple 6 : Réactivité des oligomannosides de synthèse vis à vis d'anticorps produits contre des oligomannosides naturels.

15 1) Oligomannosides de synthèse mimant les activités antigéniques des oligomannosides naturels de levures du genre *Candida*.

a) Anticorps polyclonaux.

20 Les anticorps polyclonaux monospécifiques commercialisés par la firme Iatron sont préparés par immunisation de lapins avec des levures entières puis adsorbés par des levures d'espèces hétérologues. Ils permettent, utilisés en batterie, une identification par agglutination des principales espèces de *Candida* impliquées en pathologie humaine. Chacun de ces " facteurs " réagit avec des épitopes spécifiques qui ont été identifiés par toute une série d'études immunochimiques conduites au Japon. Les résultats de ces études sont synthétisés dans la publication de S. Suzuki (Suzuki, S. et al., 1997, Curr. Top. Med. Mycol. 8 :57-70).

30 Les figures 5 et 6 rapportent les tests effectués sur le facteur 5 (○), spécifique des β-1,2 oligomannosides et le facteur 1 (■) réagissant avec les α-1,2 oligomannosides vis à vis des mannotétraoses de synthèse d'anométrie α et β-1,2.

Les figures 5 et 6 attestent de la spécificité des réactions observées.

b) Anticorps monoclonaux.

5 Plusieurs anticorps monoclonaux ont été décrits dans la littérature pour réagir avec des β -1,2 oligomannosides de *C. albicans*. La figure 7 rapporte la réactivité du D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man β (1-2) D-Man avec plusieurs de ces anticorps monoclonaux.

10 L'anticorps 5B2 (Cailliez, J. C. et al. 1988, Ann. Inst. Pasteur. Microbiol. 139 :171-88 ; Hopwood, V. et al. 1986, Infect. Immun. 54 : 222-227 ; Poulain, D. et al. 1991, Mycoses 34 : 221-226 ; Trinel, P.A., 1992, Infect. Immun. 60 : 3845-3851) généré par notre équipe (Dr. 15 Poulain). Cet anticorps détecte des oligomannosides circulants dans les sérums d'animaux et de patients infectés par *C. albicans*.

L'anticorps AF1 généré par A. Cassone (De 20 Bernardis, F. et al., 1993, J. Clin. Microbiol. 31: 3142-3146 ; De Bernardis, F. et al. 1994, Infect. Immun. 62 : 509-519 ; Girmenia, C. et al., 1997, J. Clin. Microbiol. 35 : 903-906 ; Torosantucci, A. et al., 1990, J. Gen. Microbiol. 136 : 2155-2263). Cet anticorps protège les rates dans des modèles expérimentaux de candidose vaginale.

25 Les anticorps 10G et B6.1 générés par J. Cutler (Li, R. et al., 1991, J. Gen. Microbiol. 137 :455-464 ; Li, R. et al., 1993, J. Biol. Chem. 268 : 18293-8; Kanbe, T. et al., 1994, Infect. Immun. 62 : 1662-8 ; Han, Y. et al., 1995, Infect. Immun. 63 : 2714-9 ; Han, Y. et 30 al., 1997, J. Infect. Dis. 175 : 1169-75 ; Han, Y. et al., 1997, Infect. Immun. 65 : 4100-7 ; Han, Y. et al., 1998, Infect. Immun. 66 : 5771-6 ; Zhang, M. X. et al., 1998, Infect. Immun. 66 : 6027-9). Ces anticorps réagissent contre des adhésines de *C. albicans* et protègent les souris 35 dans des modèles expérimentaux de candidose disséminée.

A titre de témoin nous avons utilisé un anticorps monoclonal dénommé CA1, produit par Sanofi-Diagnostic Pasteur et qui reconnaît des séquences α -1,2 mannose (Jacquinot, P. M. et al., 1998, FEMS Microbiol. Lett. 169 : 131-8 ; Poulain, D. et al. 1991, Mycoses 34 : 221-226 ; Trinel, P.A., 1992, Infect. Immun. 60 : 3845-3851).

Les résultats de la figure 7 montrent que les sucres de synthèse réagissent de manière attendue avec ces anticorps monoclonaux et miment donc les antigènes qui présentent tous un grand intérêt en physiopathologie.

2) Oligomannosides de synthèse mimant les activités antigéniques des oligomannosides naturels de levures du genre *Saccharomyces*.

Il a été montré qu'un des épitopes majeurs vis à vis desquels était dirigée la réponse ASCA des patients atteints de la maladie de Crohn était un mannotétraose de formule Man α -1,3 Man α -1,2 Man α -1,2 Man (Sendid, B. et al., 1996, Clin. Diagn. Lab. Immunol. 3:219-26 ; Young, M. et al., 1998, Glycoconj. J. 15 :815-22)

a) Anticorps polyclonaux animaux.

Selon les travaux immunochimiques ayant porté sur les sérums Iatron cette structure devrait réagir avec le Facteur 34 (Suzuki, S. et al., 1997, Curr. Top. Med. Mycol. 8 :57-70). La figure 8 montre que les résultats observés correspondent aux résultats attendus.

b) Anticorps de patients.

La figure 9 rapporte que l'utilisation du pool de sérums de patients, qui sert à standardiser le test ASCA, montre que ces anticorps se fixent à selon une

réaction dépendante de la dose d'antigène de synthèse utilisée pour sensibiliser les plaques.

5 Exemple 7 : Inhibition de la colonisation dans
un modèle de candidose vaginale expérimentale de la rate
(F. de Bernardis et al. *Infection and Immunity* 1998, 66 :
3317-3325).

10 Des rates ovariectomisées sont maintenues en
pseudo-oestrus par injection sous-cutanée de 0,5 mg de
benzoate d'oestradiol tous les 2 jours pendant toute la
durée des expériences.

15 Les animaux sont inoculés avec 0,1 mL d'une
solution à 10^7 levures. La cinétique de l'infection est
suivie en déterminant le nombre de levures présentes dans
les sécrétions vaginales. 1 μ L de sécrétions sont prélevées
à l'aide d'une anse en plastique calibrée, étalés sur boîte
de sabouraud gélosé plus antibiotiques, les unités formant
colonies sont numérotées après 48h d'incubation à 28°C.

20 Le graphe de la figure 10 rapporte les
résultats observés sur 4 séries de 5 rates chacune. 1 : le
 β -1,2 mannotétraose (100 μ g) a été administré 1 heure avant
inoculation. 2 : 1 heure après inoculation. 3 : 1h, 24h et
48h après inoculation.

25

REVENDEICATIONS

1) Oligomannoside produit par synthèse chimique, homologue à un oligomannoside de la paroi d'un organisme infectieux ou pathogène, ou un dérivé de celui-ci.

2) Oligomannoside de synthèse selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est homologue à un oligomannoside de la paroi d'une levure, d'un champignon, d'un virus, d'une bactérie dont l'enveloppe cellulaire contient des oligomannosides.

3) Oligomannoside de synthèse selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est homologue à un oligomannoside de l'enveloppe cellulaire de *Candida albicans* ou *Saccharomyces cerevisiae*.

4) Oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que un de ces groupements fonctionnels est substitué par un groupe marqueur ou un groupe connecteur.

5) Oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il répond à la formule suivante :



dans laquelle :

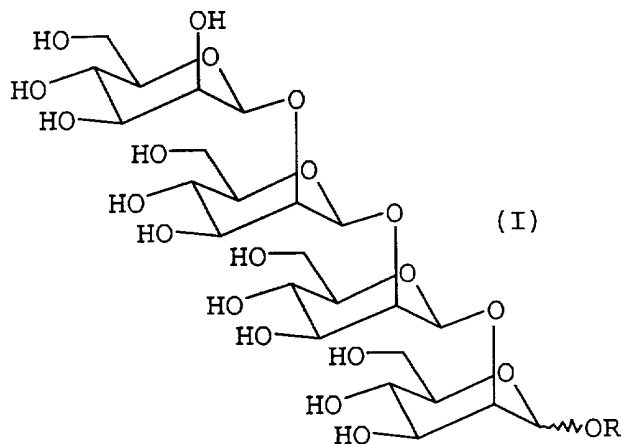
- R représente un atome d'hydrogène, un alkyle en C₁ à C₂₀, et de préférence en C₁₅ à C₂₀, ou un groupe connecteur, éventuellement marqué, ou encore une substance capable de rendre l'oligomannoside immunogène,

- p, q, et r sont des nombres entiers entre 0 et 19 et de préférence entre 0 et 11 et la somme de p+q+r est comprise entre 1 et 19 et de préférence entre 1 et 11,

- les trois parties du polymère $[Man\alpha(1-3)]_p[Man\alpha(1-2)]_q[Man\beta(1-2)]_r$ peuvent être inversées ou répétées.

5

6) Oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (I) suivante :



10

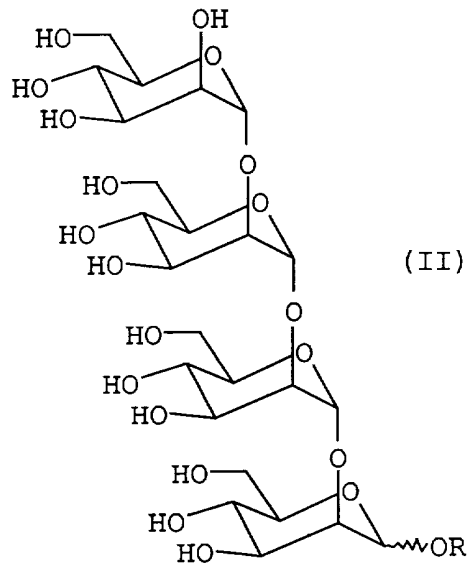
dans laquelle R représente un atome d'hydrogène, un alkyle en C_1 à C_{20} , et de préférence en C_{15} à C_{20} , ou un groupe connecteur, éventuellement marqué, ou encore une substance capable de rendre l'oligomannoside immunogène, ou un dérivé de celui-ci dont un ou plusieurs des groupes hydroxyles sont substitués.

15

20

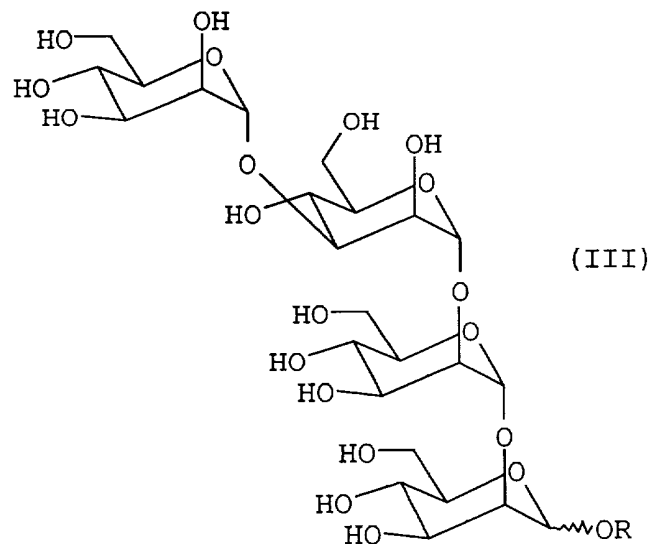
25

7) Oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (II) suivante :



5 dans laquelle R à la même signification que dans la formule (I).

8) Oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (III) suivante :



dans laquelle R à la même signification que dans la formule (I).

5 9) Oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le connecteur est un groupe chimique permettant de coupler, de préférence par covalence, un oligomannoside de synthèse sur un support comme une plaque de microtitration.

10 10) Oligomannoside de synthèse selon la revendication 9, caractérisé en ce que le connecteur est du type comportant une fonction acide carboxylique qui peut être activée pour le couplage sur une surface elle-même activée.

15 11) Procédé de préparation d'un oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisé en ce qu'il consiste à condenser des monosaccharides ou disaccharides protégés, de préférence, par condensation de dimannosides protégés selon une stratégie par dibloc.

20 12) Procédé selon la revendication 11, caractérisée en ce qu'il comprend :

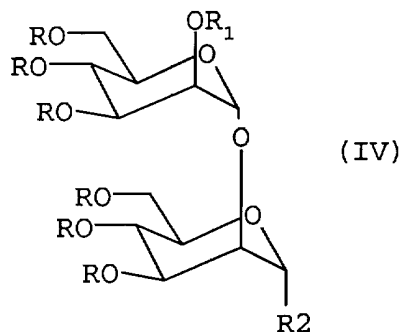
25 a) la préparation de diblocs dont :
- l'un au moins des deux blocs est le bloc intermédiaire, où les fonctions hydroxyles libres de chaque monosaccharide sont substituées par un ou plusieurs groupes protecteurs identiques ou différents, sauf celle nécessaire
30 à la condensation avec un autre dibloc qui est activée par un groupe partant,

- l'un des deux blocs est le bloc terminal, où les fonctions hydroxyles libres de chaque monosaccharide sont substituées par un ou plusieurs groupes protecteurs
35 identiques ou différents, sauf celle nécessaire à la

condensation avec un autre dibloc, et éventuellement celle substituée par un groupe de liaison pour la fixation de l'oligomannoside sur un support,

5 b) à condenser lesdits diblocs, puis à déprotéger l'oligomannoside ainsi préparé.

13) Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce qu'à l'étape (a), on prépare au moins un dimannoside $\text{Man}\alpha(1-2)\text{Man}$ de formule (IV) suivante :



10 dans laquelle :

- R est un groupe protecteur permanent.
- R1 est un groupe protecteur temporaire.
- R2 est :

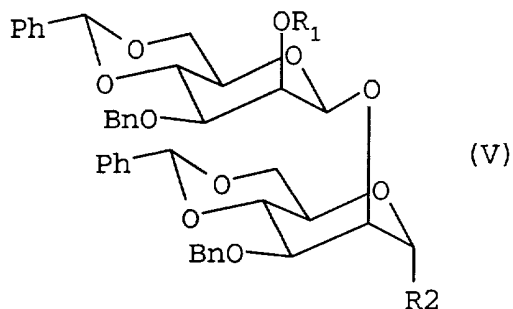
15 . dans le cas d'un bloc intermédiaire, un groupe partant et dans ce cas le bloc peut être associé au reste du polymère en α ou β ;

. dans le cas d'un bloc terminal, un groupe choisi parmi un groupe alkyle, benzyle, ou encore un connecteur, en α ou β .

20

14) Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce qu'à l'étape (a), on prépare au moins un dimannosides $\text{Man}\beta(1-2)\text{Man}$ de formule (V) suivante :

25



dans laquelle :

- R1 est un groupe protecteur temporaire;

5

- R2 est :

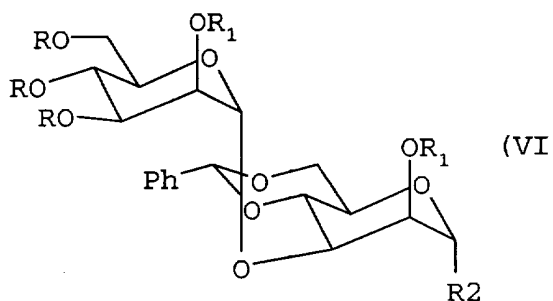
. dans le cas d'un bloc intermédiaire, un groupe partant et dans ce cas le bloc peut être associé au reste du polymère en α ou β ;

10

. dans le cas d'un bloc terminal, un groupe choisi parmi un groupe alkyle, benzyle, ou encore un connecteur, en α ou β .

15) Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce qu'à l'étape (a), on prépare au moins dimannoside $\text{Man}\alpha(1-3)\text{Man}$ de formule (VI) suivante :

15



dans laquelle :

- R est un groupe protecteur permanent,

- R1 est un groupe protecteur temporaire,

20

- R2 est :

. dans le cas d'un bloc intermédiaire, un groupe partant et dans ce cas le bloc peut être associé au reste du polymère en α ,

5 . dans le cas d'un bloc terminal, un groupe choisi parmi un groupe alkyle, benzyle, ou encore un connecteur, en α ou β .

10 16) Procédé de préparation d'un tétramannoside D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man $\beta(1-2)$ D-Man de formule (I), caractérisé en ce que l'on condense deux blocs Man $\beta(1-2)$ de formule (V), dont l'un est un dibloc intermédiaire dans lequel R2 est un groupe partant, formant une liaison β , et l'autre un dibloc terminal dans lequel R2 est un groupe -SPh.

15

20 17) Procédé de préparation d'un tétramannoside D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man, de formule (II) selon la revendication 13, caractérisé en ce que l'on condense deux blocs Man $\alpha(1-2)$ Man de formule (IV), dont l'un est un dibloc intermédiaire dans lequel R2 est un groupe partant, et l'autre un dibloc terminal dans lequel R2 est un groupe -SPh.

25 18) Procédé de préparation d'un tétramannoside D-Man $\alpha(1-3)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$ D-Man $\alpha(1-2)$, de formule (III), caractérisé en ce que l'on condense un dibloc Man $\alpha(1-3)$ Man de formule (VI) et d'un dibloc Man $\alpha(1-2)$ Man de formule (IV), le dibloc intermédiaire étant Man $\alpha(1-3)$ Man de formule (VI) dans lequel R2 est un groupe partant, et le dibloc terminal étant Man $\alpha(1-2)$ Man dans lequel R2 représente le groupe R défini dans la formule (III).

35

19) Procédé de détection *in vitro* sur un échantillon d'un patient de la présence d'une infection par un organisme infectieux ou pathogène, notamment une levure, un champignon, un virus, une bactérie dont la membrane contient des oligomannosides, caractérisé en ce que l'on met en contact au moins un oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, avantageusement préalablement fixé sur un support solide, avec un échantillon biologique susceptible de contenir des anticorps dirigés contre l'organisme infectieux ou pathogène, puis l'on détecte la formation d'un complexe antigène-anticorps.

20) Procédé de détection spécifique d'une infection par *C. albicans* notamment pour le diagnostic des candidoses selon la revendication 19, caractérisé en ce que l'on met en contact l'un au moins des tetramannosides D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man de formule (I) et D-Man α (1-2)D-Man α (1-2)D-Man α (1-2)D-Man de formule (II) avec un échantillon biologique.

21) Procédé de détection spécifique d'une infection par *S. cerevisiae* notamment pour le diagnostic de la maladie de Crohn ou d'une hépatite virale, selon la revendication 19, caractérisé en ce que l'on met en contact le tetramannoside D-Man α (1-3) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) D-Man α (1-2) de formule (III) avec un échantillon biologique.

22) Un kit pour la mise en œuvre d'un procédé selon l'une quelconque des revendications 19 à 21, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un oligomannoside de synthèse selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, avantageusement fixé sur un support solide, des moyens

pour détecter la formation de complexes antigène-anticorps, et éventuellement des réactif témoins.

5 23) Un conjugué formé d'un oligomannoside de
synthèse selon l'une quelconque des revendications 1 à 10
couplé à une substance capable de rendre les sucres
immunogènes.

10 24) Un anticorps polyclonal ou monoclonal
dirigé contre un conjugué selon la revendication 23.

15 25) Composition pharmaceutique caractérisée en
ce qu'elle comprend à titre d'agent actif au moins un
conjugué selon la revendication 23 avantageusement associé
dans la composition à un véhicule pharmaceutiquement
acceptable.

20 26) Composition selon la revendication 25 pour
être utilisée pour inhiber la colonisation par les agents
infectieux ou pathogènes dont les membranes contiennent des
oligomannosides.

Figure 1

1/9

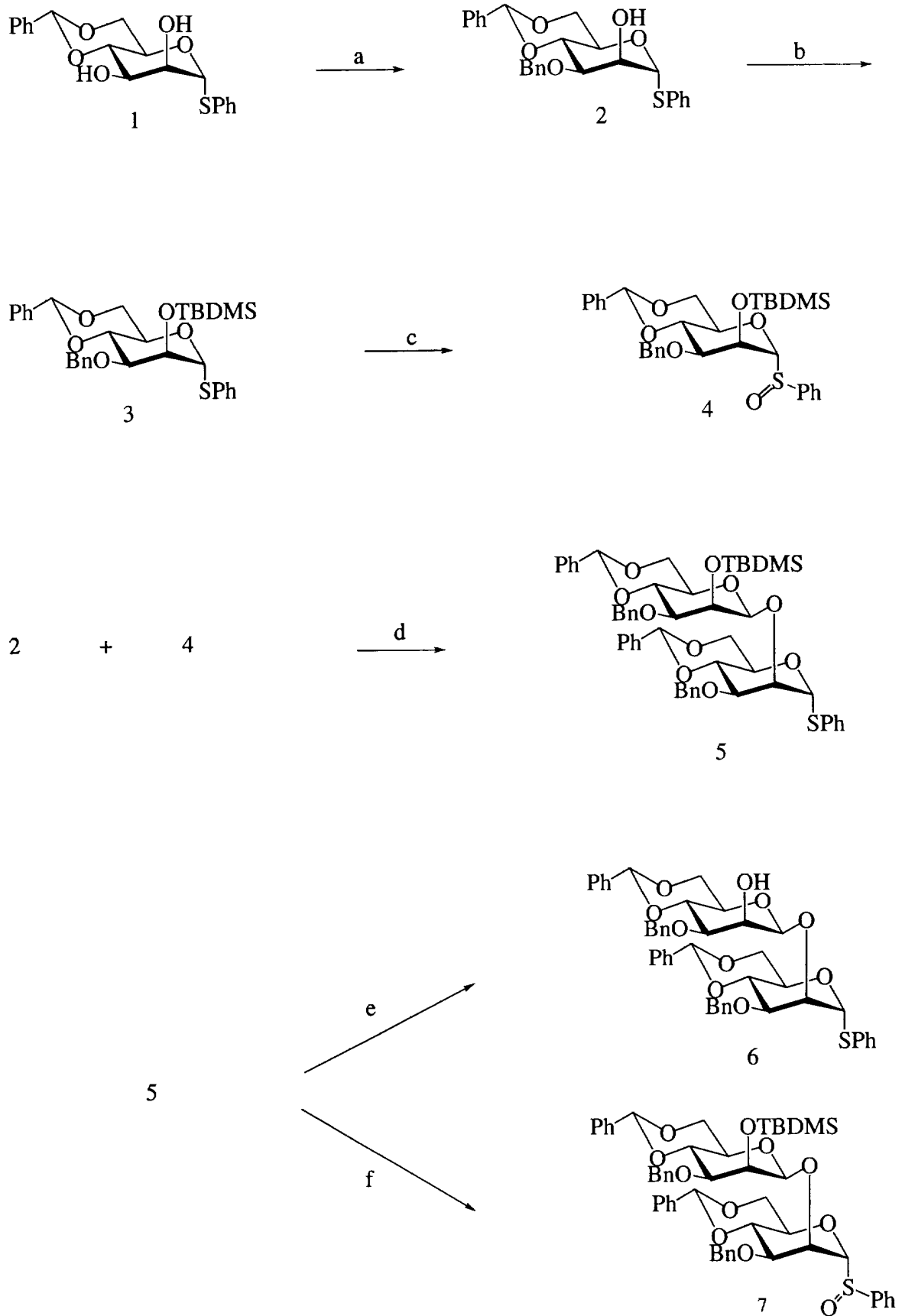


Figure 1 suite

2/9

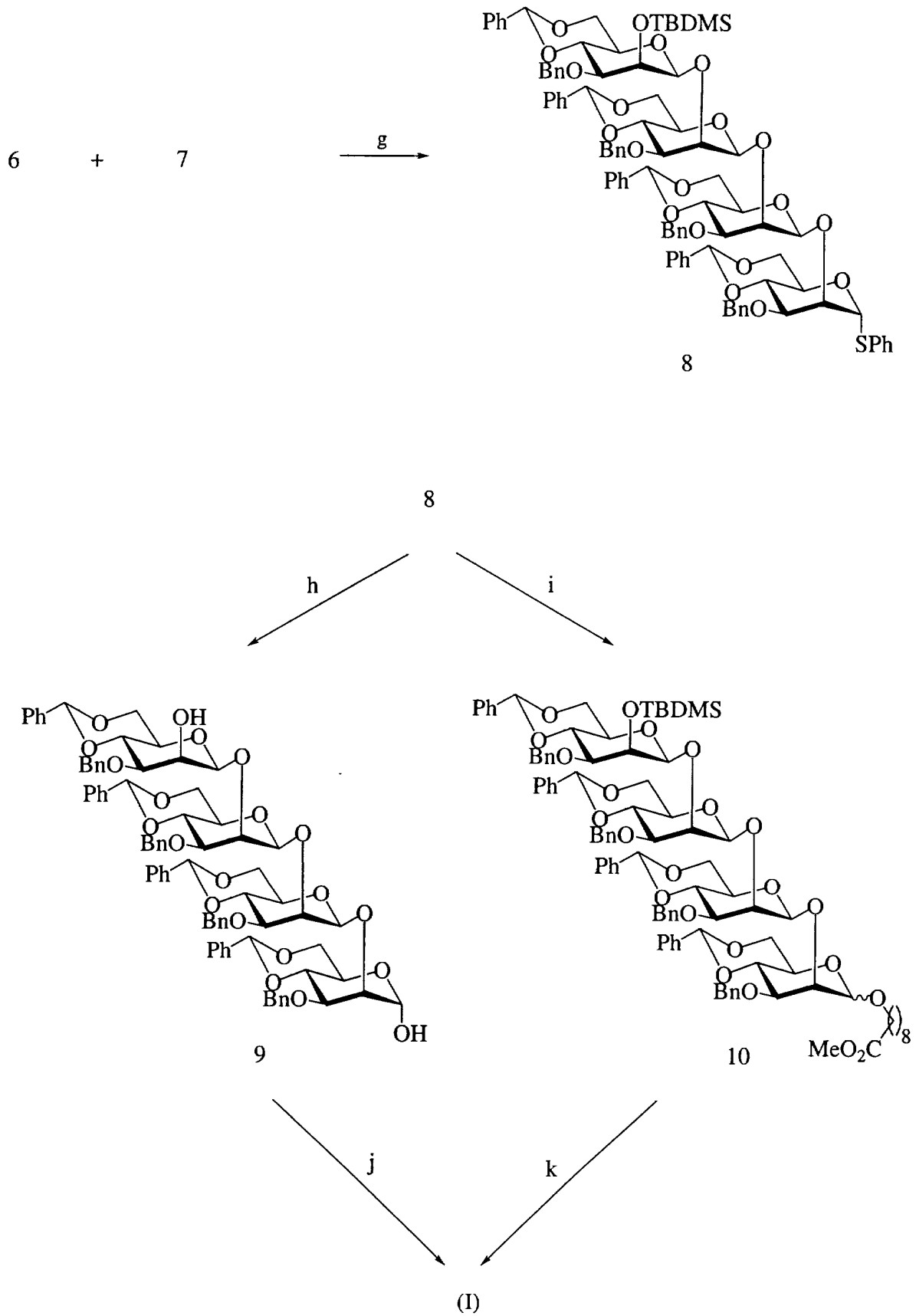


Figure 2

3/9

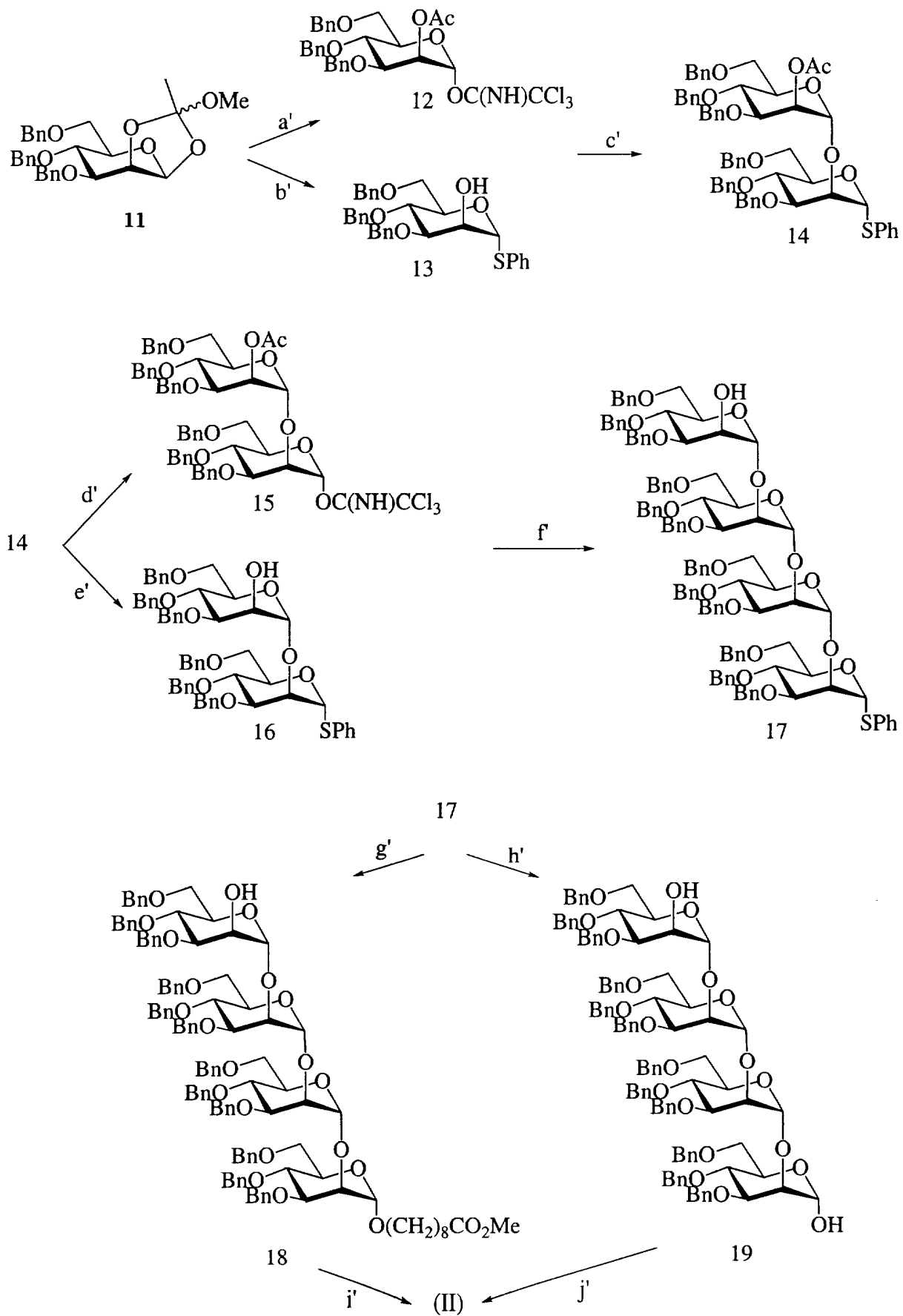


Figure 3

4/9

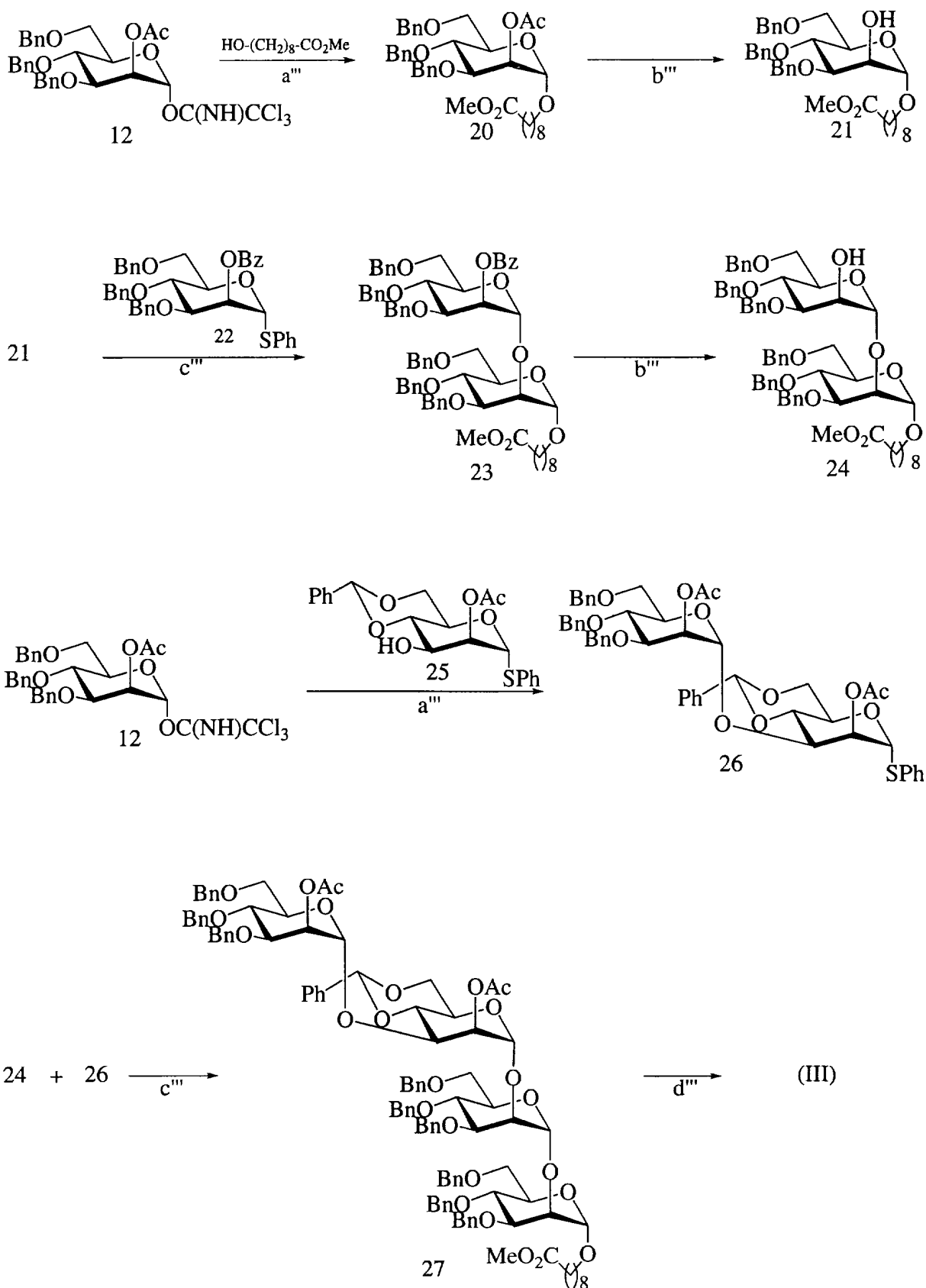


Figure 4

5/9

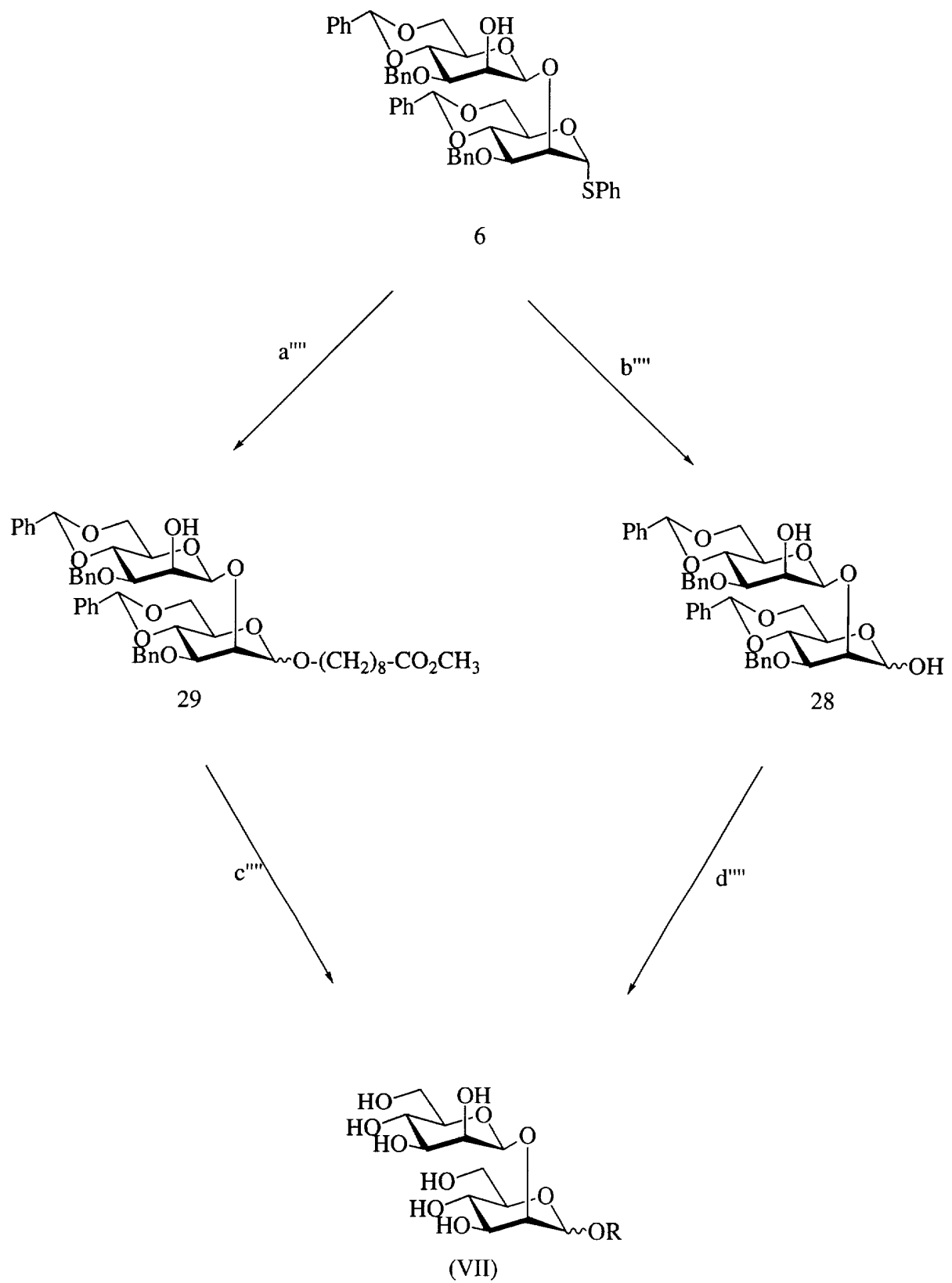


Fig.5

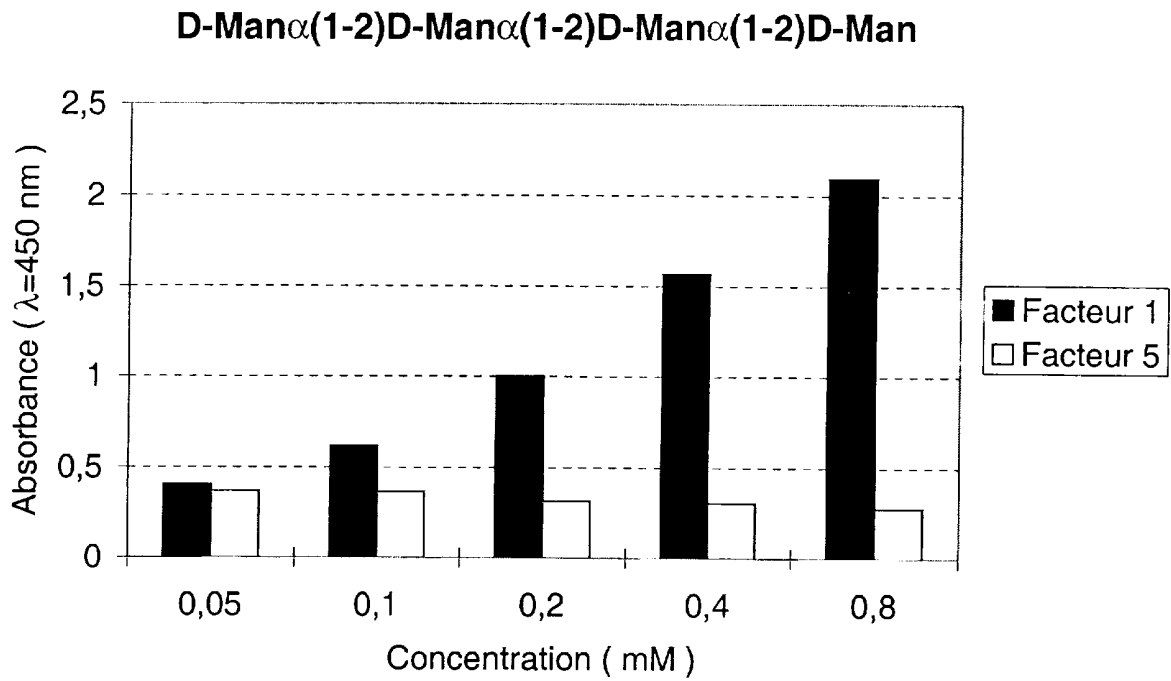


Fig.6

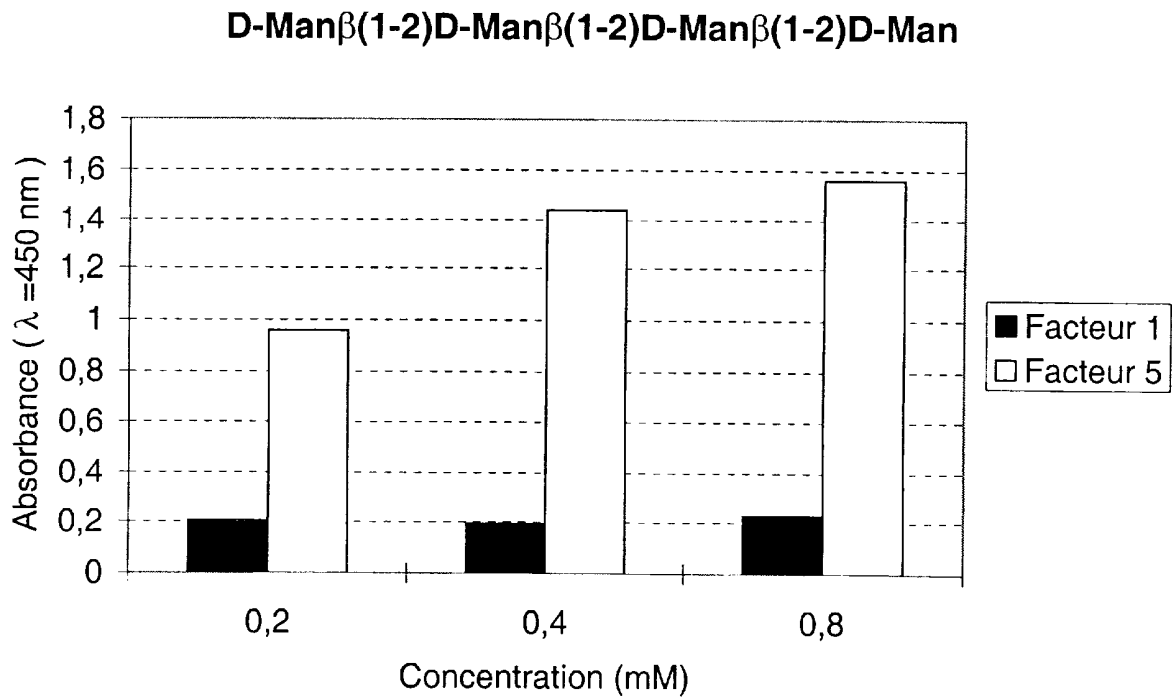


Fig.7

D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man β (1-2)D-Man

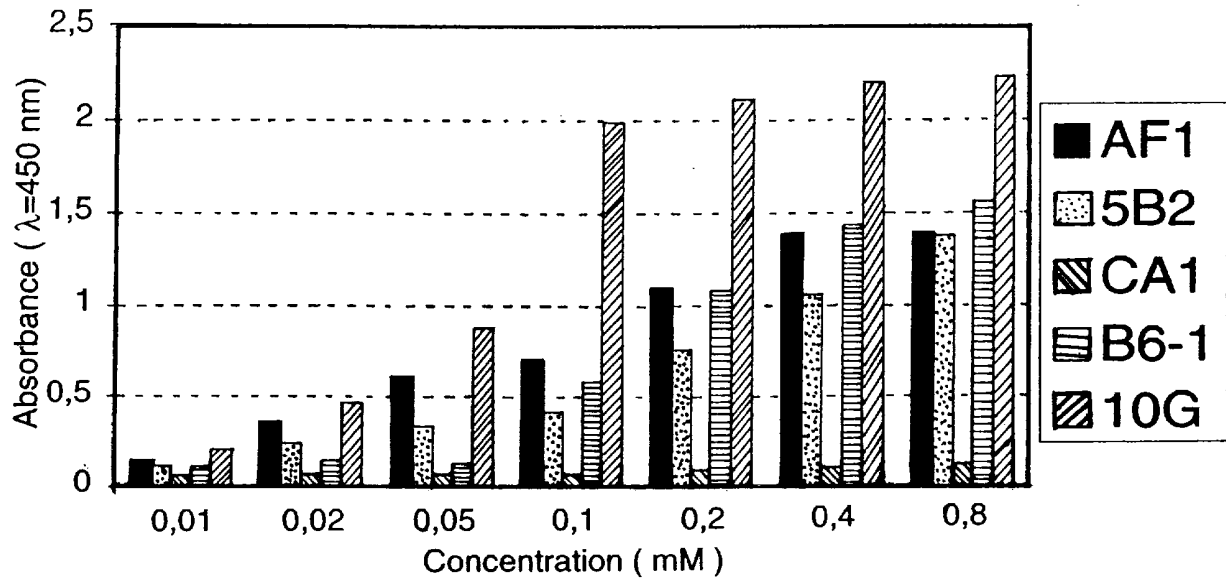
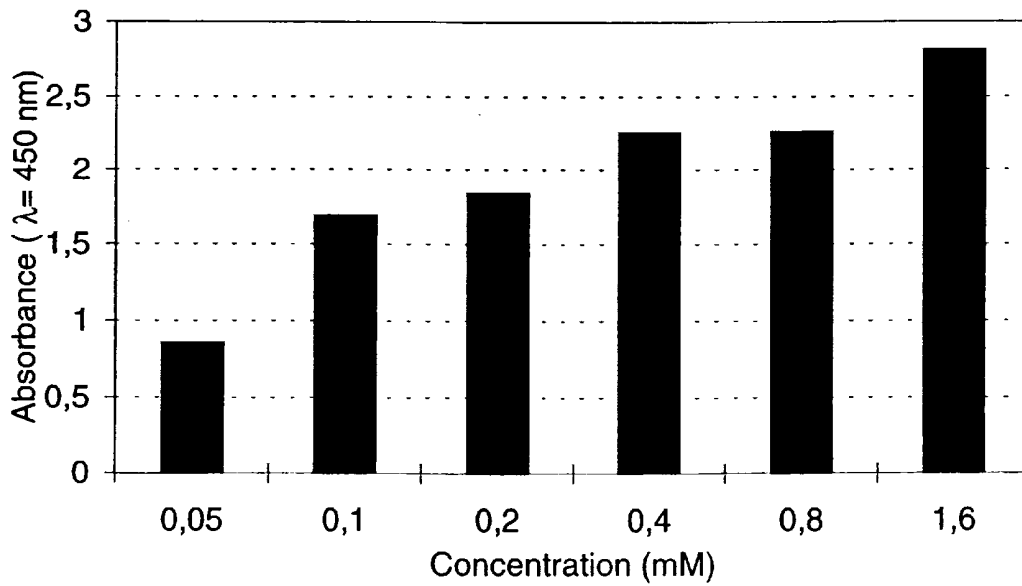


Fig.8

D-Man α (1-3)D-Man α (1-2)D-Man α (1-2)D-Man



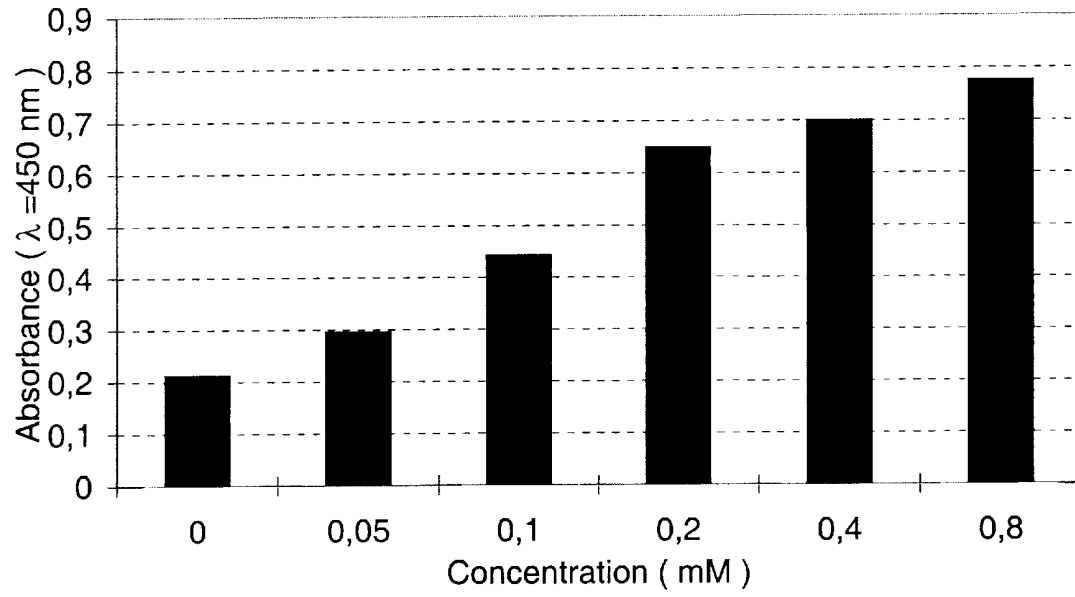
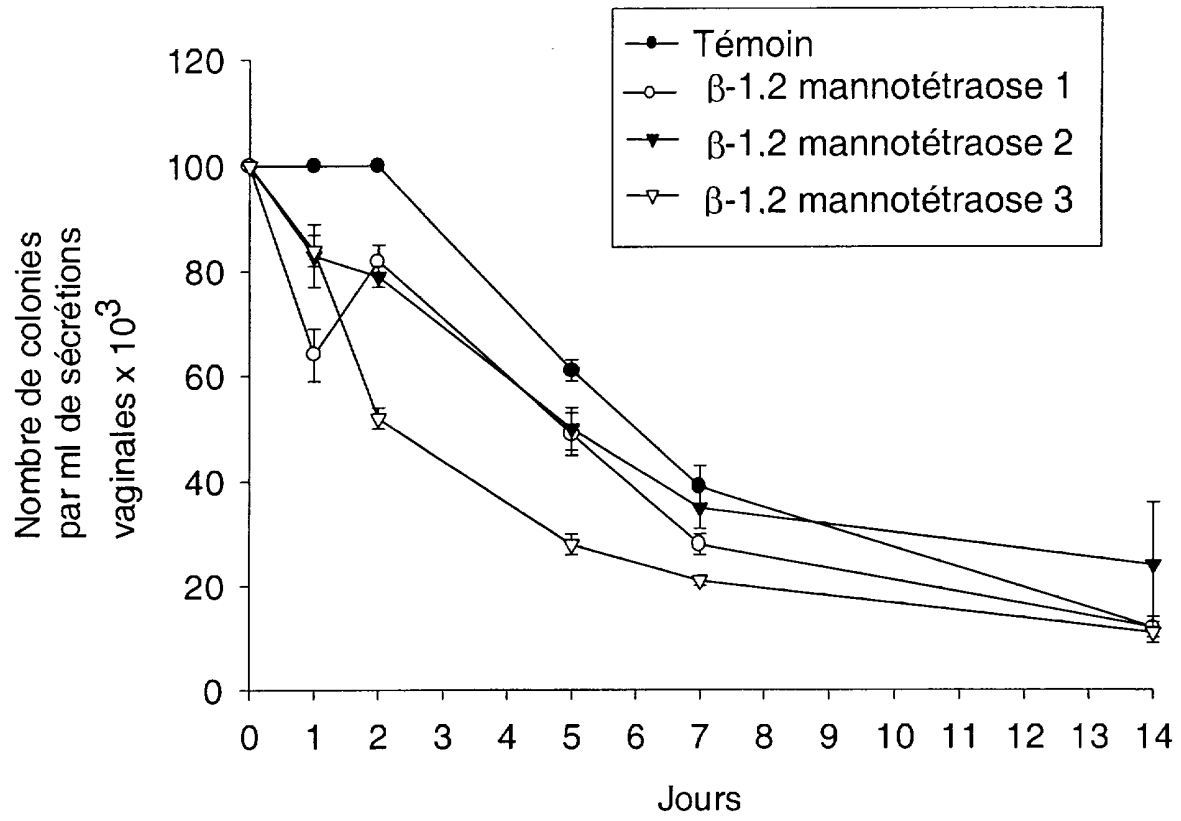
D-Man α (1-3)D-Man α (1-2)D-Man α (1-2)D-Man

Fig.9

Fig.9



INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 579955
FR 9914747

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	YUASA H ET AL: "Synthesis of 5-thiomannose-containing oligomannoside mimics: binding abilities to concanavalin A" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS,GB,OXFORD, vol. 8, no. 11, 2 juin 1998 (1998-06-02), pages 1297-1300, XP004137191 ISSN: 0960-894X	1-4,11
Y	* abrégé; page 1298, composé 5 *	1-26
X	TSURUTA O ET AL: "Syntheses of two trimannose analogs each containing C-mannosyl or 5-thio-C-mannosyl residue: their affinities to concanavalin A" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS,GB,OXFORD, vol. 9, no. 6, 22 mars 1999 (1999-03-22), pages 807-810, XP004159607 ISSN: 0960-894X	1-4,11
Y	* le document en entier *	1-26
Y	YUASA H ET AL: "Solid phase synthesis of oligomanno-peptoids that mimic the concanavalin A-binding trimannoside" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS,GB,OXFORD, vol. 8, no. 16, 18 août 1998 (1998-08-18), pages 2139-2144, XP004137234 ISSN: 0960-894X * le document en entier *	1-26
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.7)
		C07H C07K
		-/--
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
29 mai 2000		Scott, J
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

2

EPO FORM 1503 03.02 (P04C13)

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
D, Y	P-A. TRINEL ET AL.: "Mapping of Candida albicans Oligomannosidic Epitopes by Using Monoclonal Antibodies." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 60, no. 9, septembre 1992 (1992-09), pages 3845-3851, XP000907030 * abrégé *	1-26
Y	Y. HAN ET AL.: "A Vaccine and Monoclonal Antibodies That Enhance Mouse Resistance to candida albicans Vaginal Infection." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 66, no. 12, décembre 1998 (1998-12), pages 5771-5776, XP000907028 * abrégé *	1-26
Y	M. YOUNG ET AL.: "Characterization of Oligosaccharides from an Antigenic Mannan of Saccharomyces cerevisiae." GLYCOCONJUGATE JOURNAL, vol. 15, 1998, pages 815-822, XP000907013 * abrégé *	1-26
Y	M. X. ZHANG ET AL.: "Contrasting Roles of Mannan-Specific Monoclonal Immunoglobulin M Antibodies in the Activation of Classical and Alternative Pathways by Candida albicans." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 66, no. 12, décembre 1998 (1998-12), pages 6027-6029, XP000907029 * abrégé *	1-26
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.7)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
29 mai 2000		Scott, J
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

EPO FORM 1503 03.02 (P04C13)

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
Y	B.SENDID ET AL.: "Specific Antibody Response to Oligomannosidic Epitopes in Crohn's Disease." CLINICAL AND DIAGNOSTIC LABORATORY IMMUNOLOGY, vol. 3, no. 2, mars 1996 (1996-03), pages 219-226, XP000910700 * le document en entier *	1-26
Y	P.JACQUINOT ET AL.: "Nature of Candida albicans-derived Carbohydrate Antigen Recognized by a Monoclonal Antibody in Patient Sera and Distribution over Candida species." FEMS MICROBIOLOGY LETTERS, vol. 169, 1 décembre 1998 (1998-12-01), pages 131-138, XP000910713 * abrégé *	1-26
Y	S.SUZUKI: "Immunochemical Study on mannans of Genus Candida. I. Structural Investigation of Antigenic Factors 1,4,5,6,8,9,11,13,13b and 34." CURRENT TOPICS IN MEDICINAL MYCOLOGY, vol. 8, no. 1-2, 1997, pages 57-70, XP000911218 * abrégé *	1-26
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199103 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B03, AN 1984-086117 XP002138925 & JP 59 036690 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 28 février 1984 (1984-02-28) * abrégé *	1-5,8,11
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.7)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
29 mai 2000		Scott, J
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

2

EPO FORM 1503 03.82 (P04C13)

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 579955
FR 9914747

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198414 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B03, AN 1984-086118 XP002138926 & JP 59 036691 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 28 février 1984 (1984-02-28) * abrégé *</p>	1-5,11
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198516 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B03, AN 1985-096680 XP002138927 & JP 60 045589 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 12 mars 1985 (1985-03-12) * abrégé *</p>	1-4,11
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198224 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1982-48914E XP002138928 & JP 57 072997 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 7 mai 1982 (1982-05-07) * abrégé *</p>	1-4,11
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198516 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B03, AN 1985-096679 XP002138929 & JP 60 045588 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 12 mars 1985 (1985-03-12) * abrégé *</p>	1-4,11
		-/--
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
29 mai 2000		Scott, J
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

EPO FORM 1508 03.02 (Fol.19)

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 579955
FR 9914747

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198516 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B03, AN 1985-096678 XP002138930 & JP 60 045587 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 12 mars 1985 (1985-03-12) * abrégé *</p>	1-4,11
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198219 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B02, AN 1982-37937E XP002138931 & JP 57 054199 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 31 mars 1982 (1982-03-31) * abrégé *</p>	1-4,11
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 198224 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1982-48913E XP002138932 & JP 57 072996 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 7 mai 1982 (1982-05-07) * abrégé *</p>	1-4,11
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.7)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
29 mai 2000		Scott, J
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

2

EPO FORM 1508 03.02 (P04C13)